THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir le grade de
DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

par

Maurice-Bernard FLEURY

1re *THÈSE*

Étude polarographique et chimique de nouvelles aci-réductones

2e *THÈSE : Propositions données par la Faculté*

Soutenues le 26 Mars 1966 devant la Commission d'examen :

MM.	PRÉVOST	*Président*
	SOUCHAY	*Examinateurs*
	DAVID	
	TIROUFLET	

MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, boulevard Saint-Germain
PARIS — 1966

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544321_0042

THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK LEIDEN

par

Maurice-Bernard FLEURY

1re *THÈSE*

Étude polarographique et chimique de nouvelles aci-réductones

2e *THÈSE : Propositions données par la Faculté*

Soutenues le 26 Mars 1966 devant la Commission d'examen :

MM.	PRÉVOST	*Président*
	SOUCHAY	*Examinateurs*
	DAVID	
	TIROUFLET	

MASSON & Cie, ÉDITEURS
120, boulevard Saint-Germain
PARIS — 1966

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen ..... M. ZAMANSKY

PROFESSEURS

PRENANT	T	Anatomie et histologie comparées.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie.
TEISSIER	T	Zoologie.
AUGER	T	Physique quantique et Relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.
N...	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
M^lle COUSIN	T	Biol. animale (S.P.C.N.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
BOCQUET	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P.C.B.).
R. LUCAS	T	Recherches physiques.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.
MORAND	T	Physique Enseignement.
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.).
FORTIER	T	Mécanique expérim. des fluides.
DRACH	T	Zoologie.
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).
M^lle CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du Globe.
PONCIN	T	Mécanique générale.
DU BREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromolécul.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
WIEMAN	T	Chimie org. et structurale.
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T	Théorie physique.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie et Cristallographie.
J.-P. MATHIEU ...	T	Physique (Optique).
COUTEAUX	T	Cytologie.
CHOQUET	T	Théorie des fonct. et topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathématique.
SCHWARTZ	T	Calcul différentiel et intégral.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéronaut.).
BRELOT	T	Analyse supérieure.
NORMANT	T	Synthèse organique.
BÉNARD	T	Chimie minérale.
DUGUÉ	T	Statistique.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiologie végétale appliquée.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
M^lle LE BRETON ..	T	Physiologie de la nutrition.
LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie.
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).
GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
DODEMENT	T	Mathématiques (M.G.P.).
PISOT	T	Techniques mathématiques de la physique.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMAN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathémat. générales.
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
M^me TONNELAT	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Électrotechnique.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
M^me CHAIX	T	Chimie biologique.
M^me HUREL-PY ...	T	Biologie végétale (P.C.B.).
PANNETIER	T	Chimie générale.
BRUN	T	Mécan. des fluides I.
M^me DUBREIL	T	Mathématiques (Agrég.).
M^me LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.).
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.).
COTTE	T	Physique électricité.
J.-E. DUBOIS	T	Chimie organique.
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.).
OLMER	T	Énergétique générale.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiologie végétale
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie.
M^me CHARNIAUX-COTTON	T	Évolution des êtres organisés.
POSSOMPES	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TEILLAC	T	Physique nucléaire et Radioactivité.
VILLE	T	Économétrie.
WILLEMART	T	Chimie (P.C.B.).
FREYMANN	T	Recherches physiques.
ROLLET	T	Chimie minérale.
M^lle JOSIEN	T	Chimie (S.P.C.N.).
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.
G. LUCAS	T	Géologie.
ALLARD	T	Chimie physique.
BERTHELOT	T	Physiques des particules fondamentales (Orsay).
BRICARD	T	Météorologie.
M^me ALBE-FESSARD.	T	Psychophysiologie.
M. JULIA	T	Études des mol. naturelles complexes.
MAGAT	T	Physico-chimie des rayonnements.
M^lle QUINTIN	T	Électrochimie.
MONOD	T	Chimie du métabolisme.
DE POSSEL	T	Analyse numérique.
CHARLOT	T	Chimie analytique.
CHATELET	T	Chimie (P.C.B.).
MATTLER	T	Physique (S.P.C.N.).
BOUISSIÈRES	T	Radiochimie.
M^me COUTURE	T	Thermodynamique et mécanique physique.
FRANC	T	Biologie animale (P.C.B.).
SCHNELL	T	Botanique tropicale.
STOLKOWSKI	T	Physiologie générale.
ACHER	T	Chimie biol.
BAUDOIN	T	Biologie animale (P.C.B.).
BEAUMONT		Biologie animale (S.P.C.N.).
BLAMONT		Géophysique ionosphère.
BOUREAU	T	Botanique.
D. CURIE	T	Physique (M.G.P.).
DURAND-DELGA ...	T	Géologie.
HELLER	T	Physiologie végétale.
TORTRAT	T	Calcul des probabilités.
CAILLEUX	T	Géologie (S.P.C.N.).
MAGNAN		Physique électricité.
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire
M^lle FOURCROY		Biol. végétale (S.P.C.N.).
M^me CHOQUET-BRUHAT	T	Mécanique analytique et mécanique céleste.
M^lle VEIL	T	Physiologie générale.
LWOFF	T	Microbiologie.
SIESTRUNCK	T	Mécanique physique et expérimentale.
CABANNES	T	Mécanique générale.
CAIRE		Géographie phys. et Géol. dynamique.
COMOLET	T	Mécanique des fluides.
DELLOUE	T	Physique de l'exosphère.
HOUILLON		Biologie animale (P.C.B.)
OLIVIER		Anthropologie.
SAMUEL	T	Math. (E.N.S. féminine).
THIRY	T	Mécanique céleste.
ABELES		Physique (S.P.C.N.).
AMAT	T	Thermodynamique.
AUBOIN	T	Géologie.
M^me BENOIT-GUEUTAL	T	Physique nucl. et radioactivité.

PROFESSEURS *(suite)*

Bougis		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
Bruhat	T	Mathématiques (M.P.C.).
Deheuvels	T	Mathématiques propé.
Furon	T	Géologie (S.P.C.N.).
M^me^ Gans	T	Génétique.
Geneves		Biol. végétale (P.C.B.).
Guilbert		Physique (C.U.S., Orléans).
Hupe	T	Pétrographie.
Hollande	T	Biologie générale.
Lions	T	Analyse numérique.
Maitte	T	Chimie organique.
Nicolas		Géologie appliquée.
Panigel		Biologie générale.
Ravier		Pétrographie.
Roseau	T	Mécanique théoriq. des fluides.
Roubine		Électronique.
Silber	T	Chimie (P.C.B.).
Uebersfeld	T	Électronique.
Yvon	T	Théories physiques.
Hervé	T	Mathématiques.
M^me^ Pecker-Wimel	T	Astrophysique.
Balkansky		Physique (M.P.C.).
Le Corre	T	Électricité.
Nataf	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
Echalier		Biol. animale (P.C.B.).
Barraud		Physiologie cellulaire.
Dars		Géologie struct. et géol. appliquée.
Camefort	T	Botanique (agrégation).
Vichniewsky	T	Mécanique industrielle.
Blaquière		Électronique (Orsay).
Arnous	T	Physique théorique.
Tatibouet		Chimie (C.S.U., Orléans).
Malliavin	T	Mathématique propé.
Gaudemar		Chimie propé.
Brousse	T	Mécanique théorique.
Rosch	T	Astronomie.
Guy	T	Physique expérimentale.
Lazard		Mathématiques (M.P.C.).
Pierre Morel		Physique (M.P.C.).
Arsac		Programmation.
Lefebvre		Chimie (M.P.C.).
Chapeville		Biochimie.
Benoit		Physique (C.P.E.M.).
Rio		Chimie (C.P.E.M.).
Jauzein		Géologie (E.N.S.).
G. Prévost		Biologie (C.P.E.M.).
P. Favard		Biologie (C.P.E.M.).
M^lle^ Ficini		Chimie (C.P.E.M.).
Lequeux		Astronomie.
Cohen Tannoudji..		Physique atomique.
Tavernier		Physique (C.P.E.M.).
M. Durand		Biologie animale (S.P.C.N.).
Pascaud		Physiologie.
M^me^ Petit		Biol. animale (C.P.E.M.).
Cagnac		Physique agrégation.
Falk-Vairant		Physique nucléaire.
Rigaudy		Chimie (S.P.C.N.) .
Sigwalt		Chimie (S.P.C.N.).
Fournet		Électricité générale.
Collongues		Chimie (C.P.E.M.).
Dubert		Biochimie.
F. Morel		Physiologie comparée.
Talbot		Génétique chimique.
M^me^ Nougarede ..		Botanique.
François		Zoologie.
Ivanoff		Océanographie physique.
Cadiot	T	Chimie organique.
Baruch		Physique propédeutique.
Nozières		Physique générale.
Bok		Physique propédeutique.
Slonimski.		Génétique.
Krasner	T	Mathématiques.
Benzecri	T	Statistiques.
Vinh Mau		Physique (M.G.P.).
Duquesnes		Physique (C.P.E.M.).
Schutzenberger ..		Programmation.
Trémillon		Chimie (M.P.C.).
Fayard		Chimie (M.P.C.).
Buvet		Chimie (C.P.E.M.).
Authier		Physique (M.P.C.).
Picinbono	T	Physique (C.P.E.M.).
Bonnefille		Électrotechnique.
M^me^ Puiseux Dao..		Biologie végétale.

Secrétaire Général ..... R. Poullain

A MES PARENTS A MA FEMME

ET A MES ENFANTS

Affectueux hommage

A Monsieur Pierre SOUCHAY

Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

Hommage respectueux et reconnaissant

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à M. le Professeur Souchay, qui a dirigé ce travail et n'a cessé de me faire profiter de sa grande érudition et de sa constante sollicitude ; qu'il soit assuré de tout mon dévouement et de mon respectueux attachement.

Que M. le Professeur Prévost, qui a bien voulu assumer la présidence de ce Jury et m'a toujours reçu avec une aimable bienveillance en me prodiguant de judicieux conseils, veuille bien trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je remercie très sincèrement M. le Professeur David de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à mon travail et de l'attention avec laquelle il a examiné mon manuscrit.

Je remercie M. le Professeur Tirouflet d'avoir accepté de faire partie du Jury de cette thèse.

Thèse de Paris, 1966

Laboratoire de chimie iv de la Faculté des Sciences de Paris
(Professeur Souchay)
9, Quai Saint-Bernard, Paris-5e

ÉTUDE POLAROGRAPHIQUE ET CHIMIQUE DE NOUVELLES ACI-RÉDUCTONES

Par

M.-B. FLEURY

INTRODUCTION

En dehors des formes réduites de systèmes redox typiquement réversibles (quinones, indophénols, indamines, thiamines, oxazines et isooxallazines), peu de composés sont oxydables à l'électrode à goutte de mercure. Encore leurs processus de dépolarisation ne sont-ils pas réversibles, car les produits de leur électrooxydation se révèlent, soit polarographiquement inactifs, soit doués de vagues cathodiques à $E_{1/2}$ rejetés vers des potentiels plus négatifs que ceux des vagues anodiques.

Selon Wiesner (1) (*), le groupe ènediol serait oxydé à l'électrode à goutte en dicétone non hydratée, qui forme avec l'ènediol un système réversible :

$$\begin{array}{cc} -C=C- & \\ | \quad | & \end{array} \rightleftarrows \begin{array}{cc} -C-C- & \\ \| \quad \| & \end{array} + 2H^+ + 2e^-.$$
$$\begin{array}{cc} OH \quad OH & \\ & O \quad O \end{array}$$

Les propriétés acides des ènediols oxydés indiquent que le groupement dicéto subit, en solution aqueuse, une hydratation responsable de la perte de leur caractère électroactif.

Ce type d'oxydation fut observé pour la première fois avec l'acide ascorbique (2). Un comportement polarographique semblable a été décrit pour l'acide dihydroxyfumarique (1), l'acide réductique (3), l'acide dialurique (4) (5), la triose-réductone et le coumarinediol (6).

Parmi les produits d'électrooxydation de ces corps, seul l'acide dicétosuccinique donne une vague cathodique, mais elle apparaît à des potentiels de un volt plus négatifs que ceux de la vague anodique de l'acide dihydroxyfumarique (1). Récemment (7), une vague de réduction de l'acide déhydroascorbique a été décrite. Elle correspond au millième du courant de diffusion attendu.

Telles sont les principales aci-réductones étudiées, par l'école tchèque surtout. Il faut signaler qu'un processus d'oxydation analogue a été décrit pour le catéchol (8). D'autre part, H. Euler, B. Eistert (9), et leurs collaborateurs ont effectué des recherches systématiques sur la chimie des aci-réductones, mais sans exploiter, semble-t-il, les remarquables possibilités offertes par la polarographie.

La polarographie, associée à quelques autres techniques d'étude physico-chimique des solutions, telles que l'électrolyse à potentiel contrôlé, la potentiométrie, la spectrophotométrie ultra-violette, la cryoscopie dans le

(*) La bibliographie est traitée à la fin du deuxième chapitre.

sulfate de sodium décahydraté, nous a permis de mettre en évidence de *nouvelles aci-réductones* :

— *L'hydroxypyruvate de sodium* qui, en milieu alcalin, sous forme tricondensée, s'avère un réducteur exceptionnel à l'électrode à goutte (partie 1).

— *L'acide dihydroxyacrylique* HOCO — C(OH) = CHOH, terme intermédiaire labile apparu au cours de la décarboxylation de l'acide dihydroxyfumarique HOCO–C(OH)=C(OH)–COOH (partie 2).

— *L'acide dicétohydroxyglutarique*, forme ènediol, HOCO — CO — C(OH) = C(OH) — COOH, formé au cours de la dégradation alcaline de l'acide leuconique (cyclopentane-pentone) (partie 3).

— Enfin, l'analyse polarographique des semicarbazones formées par les dérivés déhydro de ces aci-réductones (R — CO — CO — COOH) nous a conduit à envisager leur cyclisation en pyrazolines-5-one, qui sont étudiées dans la quatrième et dernière partie.

I. — ÉTUDE D'UNE NOUVELLE ACI-RÉDUCTONE DÉRIVÉE DE L'HYDROXYPYRUVATE DE SODIUM

I. — Introduction

Intérêt biologique. — L'hydroxypyruvate est un corps d'importance biologique. C'est un substrat pour la déshydrogénase L-lactique du muscle (10) et du foie (11), qui le réduit en L-glycérate. C'est encore un substrat pour les transcétolases (12) et décarboxylases (13) du foie et du muscle. Une transaminase présente dans les tissus animaux est capable de transférer le groupe amino de la L-alanine à l'hydroxypyruvate (14), pour former de la L-sérine et du pyruvate. Récemment, du 3-phosphohydroxypyruvate a été synthétisé (15).

Préparation. — L'hydroxypyruvate de sodium est obtenu en solution aqueuse par action de la soude sur l'acide bromopyruvique (16).

Un titrage potentiométrique montre que $\cong 90$ p. 100 de la quantité théorique de soude, calculée à partir de la formule $CH_2Br — CO — COOH$, suffisent pour obtenir l'hydroxypyruvate de sodium. Un titrage en retour confirme que, après introduction de 1 mole de $CH_2Br — CO — COOH$ dans 2 équiv. OH^-, 0,2 équiv. OH^- n'a pas réagi. Dickens et Williamson attribuent ce phénomène à une hydrolyse partielle de la liaison C — Br (17).

D'une part la polarographie exclut cette hypothèse (voir II_1). D'autre part, si après avoir alcalinisé par 5 équiv. OH^- 1 mole de $CH_2Br — CO — COOH$, on titre par le nitrate d'argent, à l'électrode d'argent, les ions bromure libérés, on trouve 0,9 équiv.

L'analyse a montré que l'acide bromopyruvique dont nous disposions (Fluka) avait fixé environ 1 mole d'eau, ce qu'a confirmé le titrage par le réactif de Fischer :

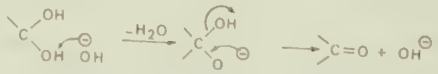
Tr. p. 100 : C, 19,53 ; H, 2,83.
Calc. pour $CH_2Br — CO — COOH, H_2O$: C, 19,50 ; H, 2,70.

En tenant compte de ce fait, la formation de l'hydroxypyruvate de sodium a bien lieu pour l'addition exacte de 2 équiv. de soude :

$$CH_2Br — C(OH)_2 — COOH + 2OH^- \rightarrow CH_2OH — C(OH)_2 — COO^- + H_2O + Br^-.$$

II. — Étude polarographique

1° Hydrolyse de la liaison C — Br. — Selon la quantité de soude employée et le temps de contact, trois formes dérivées de l'hydroxypyruvate ont été discernées : jusqu'à $pH \cong 7,5$ le polarogramme de l'acide bromopyruvique montre la vague de réduction de la liaison C — Br, mais non celle du carbonyle, en raison de son hydratation. Au-dessus de pH 9,5 (fig. 1), la vague de C — Br disparaît par suite de l'hydrolyse, tandis qu'il apparaît une vague plus négative : celle du carbonyle de l'hydroxypyruvate (1), dont la forme hydratée est moins stable. La déshydratation de l'hydroxypyruvate, catalysée par les ions $OH^\ominus$, le rend réductible, comme les mésoxalate (18) et glyoxylate (19) de sodium :



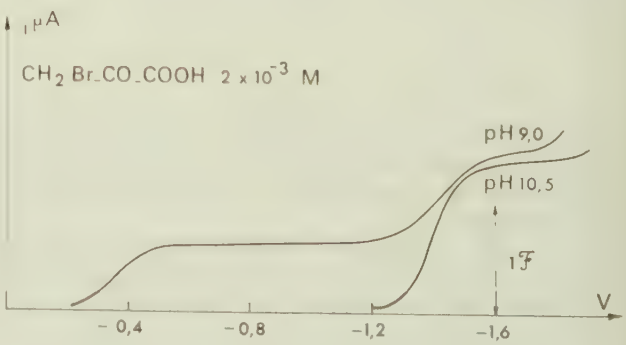


FIG. 1.

2° **Transformation de (I) en une forme non réductible (II).** — En tampon carbonate *p*H 10,5, la vague de réduction de l'hydroxypyruvate, $E_{1/2} = -1{,}40$ V (*), dès sa formation, correspond à 1,4*e*, mais elle décroît rapidement, au point de s'annuler : (I) s'est transformé en une forme (II), non réductible : la réaction suivie par la diminution d'intensité de la vague cathodique est d'ordre 1 par rapport à (I) ; à *p*H 10,5, 40° C :

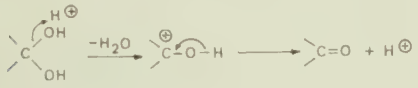
$$k = 0{,}06\ \text{mn}^{-1}\ ; \qquad t_{\frac{1}{2}} \sim 12\ \text{mn}.$$

La vitesse croît rapidement avec le *p*H. A *p*H 11,85 et à 24° C :

$$k = 0{,}18\ \text{mn}^{-1}\ ; \qquad t_{\frac{1}{2}} \simeq 4\ \text{mn}.$$

Au contraire, si après alcalinisation ménagée, une solution de (I) est acidifiée au-dessous de *p*H 7, l'intensité de la vague cathodique décroît, puisqu'une catalyse basique est à l'origine de la réduction, mais se maintient à une valeur constante en fonction du temps. L'acidification inhibe la réaction (I) → (II) mais la molécule n'est pas altérée, car revenant à *p*H 9, la vague reprend sa hauteur initiale.

La figure 2 représente la variation de $i^{\mu A}$ en fonction du *p*H. La valeur de *i* est minimale à *p*H 1. Dans des milieux plus acides, elle augmente de nouveau, par suite d'un phénomène de catalyse acide :



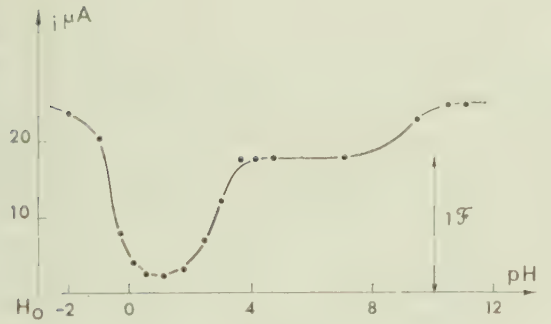


FIG. 2.

Bien que la vague cathodique en tampon acétique *p*H 4,0 ne fasse que 1*e*, une réduction électrolytique sur cathode de mercure à — 1,1 V montre que le processus est biélectronique :

$$CH_2OH - CO - COOH + 2e^- + 2H^+ \rightarrow CH_2OH - CHOH - COOH.$$

3° **Mise en évidence d'une aci-réductone (III) en milieu alcalin.** — Jusqu'ici, l'hydrolyse de l'acide bromopyruvique a été envisagée sans excès de soude. Le comportement polarographique devient différent en milieu franchement alcalin.

En opérant dans un milieu NaOH 0,02 N, NaCl 0,1 M, la vague cathodique de (I) fait toujours initialement 1,4*e* mais elle a totalement disparu au bout de 30 minutes à 22° C, tandis qu'apparaissent deux vagues anodiques, de 0,9*e*, correspondant à des $E_{1/2}$ de — 0,15 et — 0,57 V.

Ces vagues anodiques correspondent à l'oxydation d'une aci-réductone :

Dans la soude $\frac{N}{10}$, la vague cathodique n'existe plus mais on observe deux vagues anodiques ($E_{\frac{1}{2}} = -0{,}21$ et $-0{,}61$ V) correspondant chacune à $(2/3 \times 2)e$, valeur confirmée par électrolyse anodique à potentiel contrôlé (E = — 0,35 V). La solution présente dans l'ultra-violet (*) une bande importante : $\varepsilon = 8\,500$ à 270 mµ.

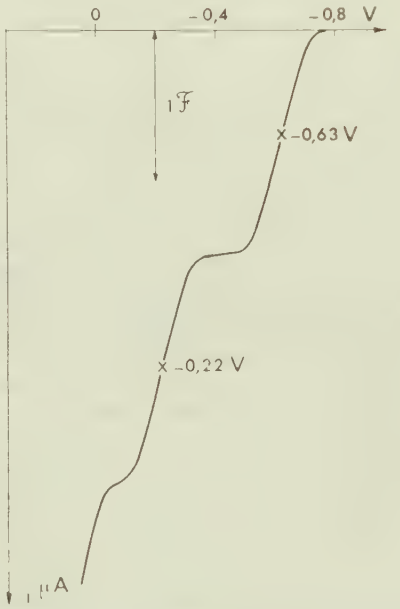


FIG. 3.

Dans la soude N (fig. 3), les vagues anodiques sont translatées vers des potentiels encore plus négatifs

(*) Les polarogrammes ont été effectués sur un polarographe Radiometer PO4. Dans tout cet exposé, les potentiels de demi-vague sont donnés par rapport à l'électrode à calomel saturée, et après correction de la chute ohmique de tension.

(*) Les mesures spectrophotométripues ont été réalisées dans les conditions d'application de la loi de Beer-Lambert. Les appareils utilisés ont été le spectrophotomètre Jobin et Yvon type Maroc II et le spectrophotomètre Unicam SP 800 B.

(— 0,22 et — 0,63 V), qui correspondent à un pouvoir réducteur remarquable (20) jamais atteint jusqu'ici dans la série des aci-réductones (fig. 4).

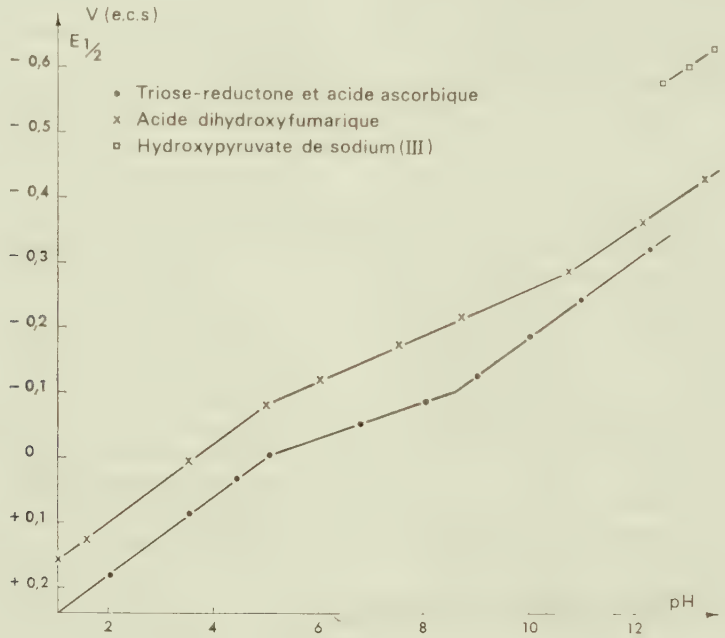


FIG. 4.

Après oxydation électrolytique à — 0,35 V dans la soude $\frac{N}{5}$, un titrage potentiométrique montre que le produit oxydé, instable, a perdu 2/3 CO_2 par molécule d'acide bromopyruvique initiale. La solution décarboxylée ne contient plus de carbonyle réactif ; elle donne les réactions des acides-alcools (Berg, Uffelmann).

L'ensemble de ces propriétés laisse présumer que (III) est une molécule tricondensée.

Les propriétés des trois formes d'hydroxypyruvate discernées par polarographie sont maintenant envisagées plus en détail.

III. — Étude de l'acide hydroxypyruvique (I)

Une solution de (I) stabilisée par acidification ne présente pas de spectre notable dans l'ultra-violet. De même que l'aldéhyde hydroxypyruvique n'est pas en équilibre avec son tautomère, la triose-réductone (21), (I) n'est pas en équilibre avec l'acide dihydroxyacrylique :

$$CH_2OH - C(OH)_2 - COOH \rightleftarrows HC(OH) = C(OH) - COOH + H_2O.$$

Aussi les propriétés chimiques de (I) sont elles uniquement celles d'un acide α-cétonique :

1° Les solutions légèrement acides de (I) ne sont pas oxydées par l'iode.

2° La vitesse de décarboxylation des solutions aqueuses de (I) est très faible ; à *p*H 1,5 et à 40° C

$$k = 1{,}5 \times 10^{-4}\ mn^{-1}\ ; \qquad t_{½} = 78\ \text{heures.}$$

3° La semicarbazone de (I) a été préparée par dilution au dixième d'une solution de (I) 2×10^{-2} M, dans une solution de semicarbazide préalablement ajustée à *p*H $\simeq$ 3,0. Elle est comparable à la semicarbazone de l'acide pyruvique par son spectre ultra-violet ($\varepsilon = 8\,000$ à 260 mμ à *p*H < 1 ; $\varepsilon = 10\,000$ à 250 mμ à *p*H > 2) et par son comportement polarographique. La courbe $E_{½} = f(pH)$ présente deux cassures (fig. 5) :

— au-dessous de *p*H 1,2	$E_{½} = -0{,}48 - 0{,}06\ pH$
— entre *p*H 1,2 et *p*H 4,0	$E_{½} = -0{,}41 - 0{,}09\ pH$
— entre *p*H 4,0 et *p*H 4,8	$E_{½} = -0{,}64 - 0{,}06\ pH$

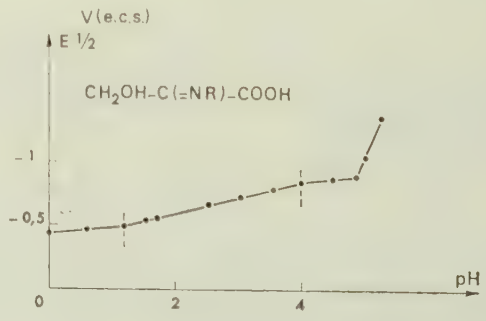


FIG. 5.

Bien que le processus global soit irréversible, d'après la pente des trois segments de droite, il semble qu'une réaction de transfert de proton précède l'étape la plus lente dans la réaction à l'électrode.

Au-dessus de *p*H 5, la pente augmente notablement, tandis que décroît l'intensité de la vague de réduction, qui disparaît au-delà de *p*H 5,6.

Une électrolyse sur cathode de mercure, à potentiel contrôlé : (E = — 1,1 V à *p*H 3,70), montre que la réduction de la semicarbazone est un processus biélectronique, ce qui n'est possible qu'en l'absence de condensation de (I).

IV. — Étude de (II)

(II) étant essentiellement caractérisé par la disparition de réactivité du carbonyle de (I) à l'électrode à goutte, il était intéressant de vérifier si la réaction (I) → (II) n'était pas une réaction de condensation analogue à celle conduisant à l'acide parapyruvique (22).

1° **Cryoscopie.** — Une étude cryoscopique, au point de transition de Na_2SO_4, montre que l'hydroxypyruvate obtenu par action de 2 équiv. OH^- sur 1 mole d'acide bromopyruvique (pris hydraté) n'est pas condensé tant qu'il lui correspond la vague de réduction de 1,4*e* à *p*H 10. Après avoir retranché l'abaissement dû aux ions Br^-, l'abaissement moléculaire est voisin de 18. Au contraire, au bout de 10 minutes, quand la vague cathodique a pratiquement disparu, le Δ moléculaire de la même solution est de 6, soit 1/3 de l'abaissement normal. Il est évident que (II) est tricondensé.

2° **Préparation d'un sel sodique.** — 10 mmoles d'acide bromopyruvique sont dissoutes dans 9 ml de soude 2 N. Attendre 10 minutes pour que la condensation de (I) en (II) soit totale. Ajouter 100 ml d'alcool méthylique désoxygéné : un abondant précipité blanc se forme. Le précipité, lavé à l'alcool méthylique et séché sous vide phosphorique ne contient pas de brome. L'analyse correspond à un rapport C/Na = 2,96 ; on trouve en effet :

C = 24,88 p. 100 Na = 16,10 p. 100.

Une solution 0,2 M de ce sel fournit, au point de transition de Na_2SO_4, un Δ moléculaire de 6, rapporté à une mole d'acide en C 3 : il s'agit bien d'un sel tricondensé.

La courbe de titrage cryoscopique (fig. 6) par l'acide sulfurique comprend trois parties : (1) jusqu'à 1/3 équiv. H^+, Δ demeure constant ; (2) entre 1/3 et 3/3 équiv. H^+, la pente est à peine inférieure à la pente théorique correspondant aux additions d'acide, qui est suivie au-delà de 3/3 (3). Ainsi la molécule tricondensée présente deux acidités fortes et une, plus faible, visible également par titrage potentiométrique (*p*K ≃ 3,6).

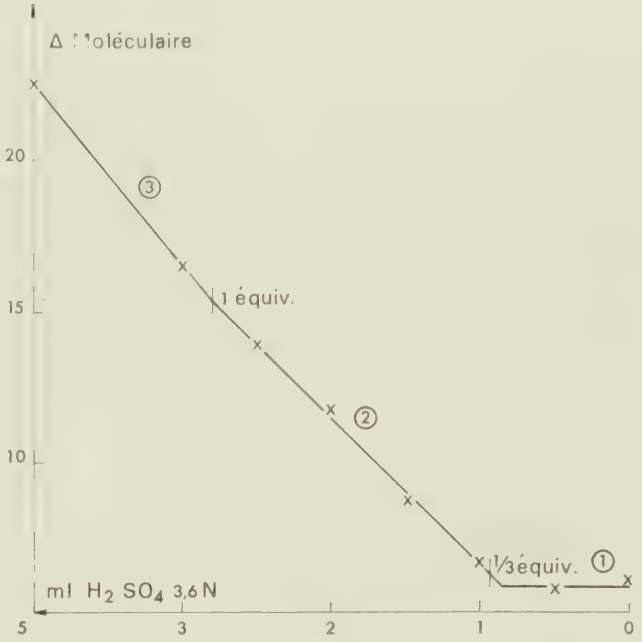


FIG. 6.

L'absorption dans l'ultra-violet étant négligeable, le sel correspond à un acide-cétol.

V. — Étude de l'aci-réductone (III)

Les résultats obtenus par polarographie et par électrolyse à potentiel contrôlé laissent présumer que (III) est une molécule tricondensée. Cette hypothèse va être confirmée.

1° **Relation avec le sel de sodium** (II). — Les solutions aqueuses de (II), désoxygénées, donnent instantanément (III) par simple alcalinisation au-dessus de *p*H 12.

2° **Titrage cryoscopique.** — 11,25 mmoles de $CH_2Br - CO - COOH$, H_2O, alcalinisées par 40 méquiv. OH^-, ont été titrées en retour par H_2SO_4 5 N, au point de transition de Na_2SO_4. La courbe obtenue en portant les Δ moléculaires en fonction des équiv. H^+ par mole d'acide bromopyruvique manifeste plusieurs parties (fig. 7) :

— la pente de la droite ①, comparée au Δ théorique si NaOH restait libre, présume l'existence d'acidités ènedioliques très faibles, de *p*K voisin de 13,5 (23),

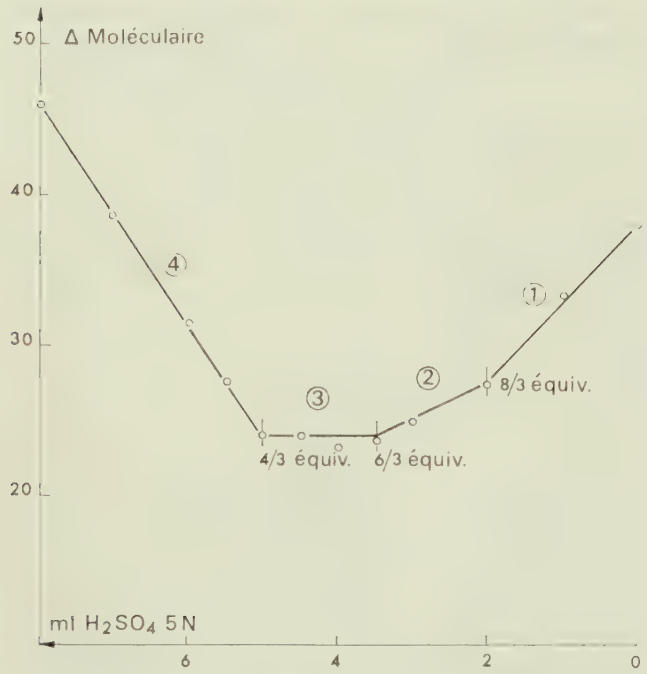


FIG. 7.

— la droite ②, comprise entre 8/3 et 6/3 équiv. correspondrait à 2 acidités ènedioliques plus fortes que les deux précédentes, dans la molécule tricondensée.

— le palier ③ s'étend de 4/3 à 6/3 équiv. pour une ordonnée $\Delta = 24$. Pour obtenir l'abaissement moléculaire dû à l'ènediolate (III), il faut retrancher de cette valeur l'abaissement dû aux ions Br^-. Soit Δ (hydroxypyruvate) $= 24 - 18 = 6$: l'acidification de l'ènediolate (III) donne un composé tricondensé, doté de deux acidités carboxyliques faibles.

La neutralisation de ces acidités faibles effectuées, on retombe sur la pente théorique correspondant aux additions d'acide ④ : la troisième acidité carboxylique est forte.

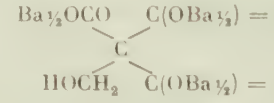
Remarque : Le sel de sodium précédemment analysé manifestait au contraire deux acidités fortes et une faible.

3° **Hypothèse concernant la réaction de condensation.** — Pour tenir compte des données polarographiques et cryoscopiques, le schéma de condensation doit aboutir à une molécule en C9, résistant à l'acidification et renfermant deux groupements aci-réductone. On peut envisager par exemple la réaction ci-dessous (*).

Puisque la condensation s'arrête au stade 3, des réactions de déshydratation intramoléculaires doivent se produire et stabiliser la molécule à 9C en formant des cycles furannique ou pyrannique.

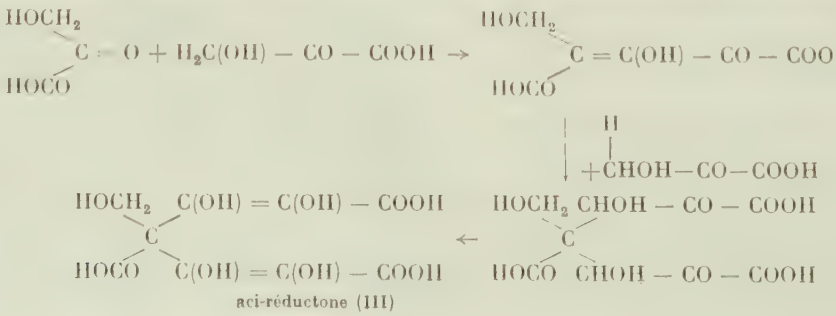
4° **Isolement d'un sel insoluble de** (III). — Dans la préparation du sel de sodium (II), le rapport équiv. OH^-/mole $CH_2Br - CO - COOH$ était de 2. Au fur et à mesure qu'il croît au-delà de cette valeur, le pourcentage d'ènediol obtenu après redissolution décroît, cependant qu'augmente le Δ cryoscopique. Pour un rapport égal à 3, le sel obtenu fournit 40 p. 100 d'ènediol. Une augmentation des équiv. OH^-, au lieu de salifier les acidités ènedioliques de (III), augmente l'importance d'une réaction de coupure, si bien qu'il est impossible de préparer le sel de sodium de (III) par cette méthode ; (une réaction de coupure a été décrite pour les acides γ pyrone dicarboxyliques, très proches de (III) (24)).

Si le sel de sodium de (III) n'a pu être obtenu, le sel de baryum précipite instantanément par addition de Ba^{++} à une solution d'ènediolate 4×10^{-2} M dans la soude $\frac{N}{5}$ rigoureusement désoxygénée. Étant donné le caractère exceptionnellement réducteur de l'ènediolate, la précipitation a dû être faite en boîte à gant ; en effet, le produit oxydé se décarboxyle et la moindre trace de carbonate de baryum fausserait les résultats de l'analyse. Ces précautions étant prises, l'analyse et le dosage iodométrique s'accordent avec la formule $C_9H_3O_{11}Ba_{3,5}$, dans laquelle les quatre acidités ènedioliques sont salifiées en plus des trois carboxyles.



Calc. pour $C_9H_3O_{10}Ba_{3,5}$, 4 H_2O p. 100 : C, 13,31 ; H, 1,32 ; Ba, 58,40. — Tr. : C, 13,35 ; H, 1,80 ; Ba, 58,00.

(*)



aci-réductone (III)

L'apparition des acidités ènedioliques est également visible sur un titrage potentiométrique. Une mole de $CH_2Br - CO - COOH$, H_2O consomme 2 équiv. OH^- après alcalinisation par 5 équiv. OH^-. Si la même solution est additionnée de Ba^{++} et séparée du précipité insoluble par centrifugation, la consommation s'élève à 3,3 équiv. OH^- par mole d'acide bromopyruvique ; la précipitation par Ba^{++} a fait apparaître 1,3 $\left(\simeq 2 \times \frac{2}{3}\right)$ acidité par mole d'acide bromopyruvique initiale, ce qui s'accorde avec la formule proposée pour le sel de baryum de (III). En l'absence de Ba^{++}, la structure ènediolique se transforme par acidification en cétol tautomère, ne renfermant que des acidités carboxyliques, et dont il va maintenant être question.

5° **Acidification des solutions d'ènediolate** (III). — A. **A pH > 5.** — Il existe, au-dessus de *p*H 10,5 un équilibre réversible cétol (II) $\underset{\vec{k}}{\overset{\vec{k}}{\rightleftharpoons}}$ ènediolate (III). Le même état d'équilibre est atteint, à un *p*H donné, que l'on parte du cétol (II) ou de l'ènediolate (III). Les vitesses $\vec{k}$ et $\overleftarrow{k}$ ne sont pas mesurables. A 24° C, le phénomène est pratiquement instantané. Si, au-dessus de *p*H 12,5, l'équilibre est totalement déplacé en faveur de l'ènediolate (III), pour des valeurs de *p*H comprises entre 12,5 et 10,5, le pourcentage d'ènediolate à l'état d'équilibre décroît très rapidement. Il a été déterminé, soit en mesurant l'intensité du courant anodique à l'électrode à goutte de mercure, soit en mesurant l'absorption à 272 mμ (fig. 8).

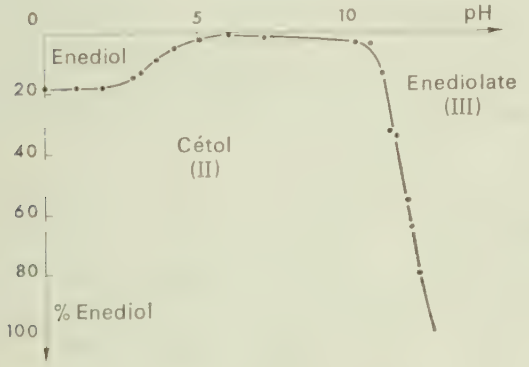


FIG. 8.

En acidifiant vers *p*H 7 par l'acide phosphorique ou vers *p*H 5,5 par l'acide acétique, l'état d'équilibre est atteint en 10 minutes à 24° C. Il correspond à 99 p. 100 de forme cétol (II) et 1 p. 100 d'ènediol (III) ; par réalcanisation au-dessus de *p*H 12,5 ces solutions redonnent 100 p. 100 d'ènediolate (III). La réaction est réversible. Les solutions acidifiées au-dessous de *p*H 5 correspondent, à l'équilibre, à un pourcentage d'ènediol plus élevé.

B. **A pH < 5.** — a) *Étude spectrophotométrique dans l'ultra-violet.* — Si une solution d'ènediolate est acidifiée par un acide minéral, on observe initialement une bande très importante à 246 mμ ($\varepsilon = 7\,600$) (*), attribuable à 100 p. 100 d'ènediol, mais l'intensité de l'absorption décroît rapidement en tendant vers une limite $\varepsilon = 1\,400$ (fig. 9). L'ènediol s'est transformé en une forme tautomère qui n'absorbe plus. Comme en milieu alcalin, on tend vers le même état d'équilibre que l'on parte du cétol ou de l'ènediol ; (une solution d'ènediolate acidifiée entre *p*H 5 et 7 ne contenant que 1 p. 100 d'ènediol peut être utilisée comme source de cétol pratiquement pur).

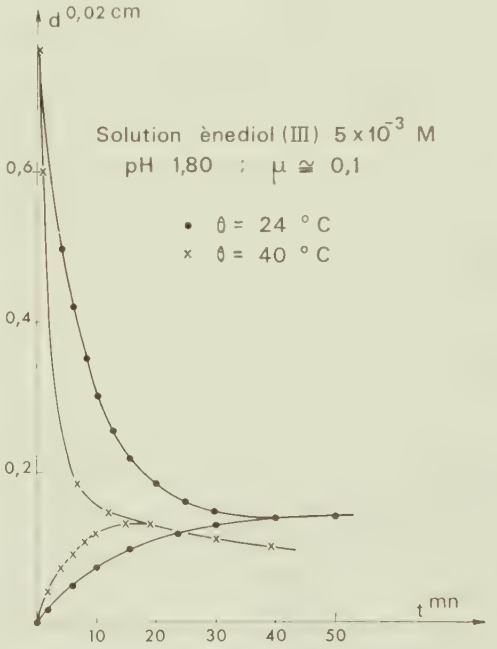


FIG. 9.

La transformation inverse cétol $\xrightarrow{\vec{k}}$ ènediol peut donc être suivie, soit après acidification à *p*H < 2 d'une solution acétique à *p*H 5 de cétol, soit après oxydation par l'eau de brome de l'ènediol présent à l'état d'équilibre (l'absorption des iodures serait gênante), en mesurant la vitesse de réapparition de la bande à 246 mμ. Dans le second cas, il y a lieu de corriger les valeurs trouvées pour la densité optique en tenant compte de la variation de la concentration consécutive à l'oxydation de l'ènediol présent avant l'addition d'eau de brome.

(*) déterminé par extrapolation.

A un pH donné, la réaction de tautomérie peut être exprimée comme une réaction du type :

$$-CO-CHOH- \underset{k_{cétol}}{\overset{k_{ènediol}}{\rightleftharpoons}} -C(OH)=C(OH)-$$

Estimant les densités optiques au temps $t = 0$ par extrapolation, et à l'état d'équilibre, la valeur suivante a été trouvée pour la constante d'équilibre K à 24° C et à pH 1,05 ou 1,85 :

$$K = \frac{k_{cétol}}{k_{ènediol}} = \frac{7\,600 - 1\,400}{1\,400} = 4{,}43.$$

La courbe $\mathrm{Log}_{10}\dfrac{d_\infty}{d_t} = f(t)$ est linéaire pour les courbes ascendante et descendante, avec la même pente, mais des signes opposés. La réaction est donc d'ordre 1 à 24° C :

pH 1,85 = $k_{cétol} + k_{ènediol} = 0{,}065$ mn^{-1} ; $t_{½} \cong 11$ mn
$k_{ènediol} = 0{,}012$ mn^{-1}
$k_{cétol} = 0{,}053$ mn^{-1}
pH 1,05 = $k_{cétol} + k_{ènediol} = 0{,}136$ mn^{-1} ; $t_{½} \cong 5$ mn
$k_{ènediol} = 0{,}025$ mn^{-1}
$k_{cétol} = 0{,}111$ mn^{-1}

De ces deux valeurs on tire :

$$\Delta \log (k_{cétol} + k_{ènediol}) = 0{,}4\ \Delta\ p\mathrm{H}.$$

Cependant, à pH 1,85 mais à 40° C

$$k_{cétol} + k_{ènediol} = 0{,}184\ ;\ t_{½} \cong 3 \text{ mn } 45 \text{ sec}$$

d'où la valeur de ΔH :

$$\Delta H = 12 \text{ kcal.}$$

Remarques. — 1° Le pourcentage d'ènediol présent à l'équilibre (18 p. 100) correspond au pourcentage d'énol présent dans l'équilibre acide oxaloacétique $\rightleftarrows$ acide hydroxyfumarique (18) :

$$\underset{80\text{ p. }100}{HOCO-CH_2-CO-COOH} \rightleftarrows \underset{20\text{ p. }100}{HOCO-CH=C(OH)-COOH}$$

La variation en fonction du pH du pourcentage d'ènediol présent à l'équilibre est représenté sur la figure 8.

2° Il est évident que la réaction de tautomérie ne peut être étudiée que dans la mesure où sa constante de vitesse k_1 est très supérieure à celle de la réaction de décarboxylation k_2 qui la suit (voir plus loin, paragraphe *c*). Ainsi, à pH 1,80, les mesures sont aisées, à 24° C, car on a :

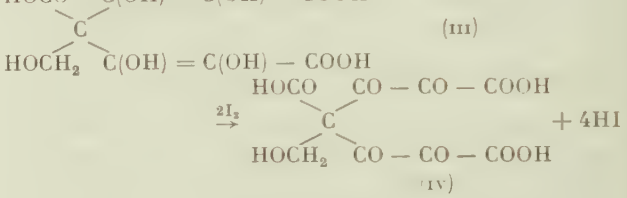
$$k_1/k_2 = 65 \times 10^{-3}/10^{-3} = 65.$$

Par contre, à 40° C, la distinction des deux réactions est déjà plus délicate, comme le montre la figure 9, car :

$$k_1/k_2 = 184 \times 10^{-3}/15 \times 10^{-3} = 12.$$

3° On constate qu'au-dessous de pH 2 (fig. 8), la quantité d'ènediol tend vers une limite ; elle est moitié moindre à pH 3,60. Il est remarquable que cette valeur corresponde au pK de la troisième acidité carboxylique trouvée par potentiométrie pour le sel de sodium (II) : l'ionisation de cette acidité de la forme cétol déplacerait l'équilibre. Par contre, au-dessus de pH 10,5 l'ionisation des acidités faibles de l'ènediol, mises en évidence par cryoscopie, a un effet inverse et déplace l'équilibre en faveur de l'ènediolate (III).

b) Action de l'iode. — L'iode réagissant en excès oxyde totalement l'ènediol (III) par déplacement d'équilibre. De pH 0 à pH 5, la quantité d'iode consommée correspond à (2 × 2/3) équiv. par mole d'acide bromopyruvique initiale.

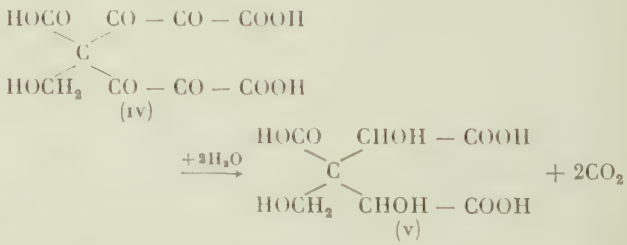


(III)

(IV)

Ce résultat s'accorde avec le schéma de réaction (III) → (IV), mais le même résultat serait obtenu au cas où une hydrolyse de (III) en milieu acide donnerait naissance à deux molécules d'acide dihydroxyacrylique, oxydable, et une molécule d'acide hydroxypyruvique, non oxydable (voir (III_1)). Cette dernière éventualité doit être exclue, car si une mole d'acide hydroxypyruvique se trouvait libérée, elle conduirait par alcalinisation ultérieure, à 1/3 de mole d'ènediolate ce qui n'est pas le cas. Ainsi, l'oxydation par l'iode confirme la tricondensation.

D'autre part (IV) se décarboxyle aisément : à pH 1 et à 60° C, la quantité de CO_2 libérée correspond à 2/3 mole CO_2 par mole d'acide bromopyruvique initiale.



(IV)

(V)

(V), qui ne possède plus de carbonyle est inerte vis-à-vis de la semicarbazide, mais donne les réactions des acides-alcools (Berg, Uffelmann).

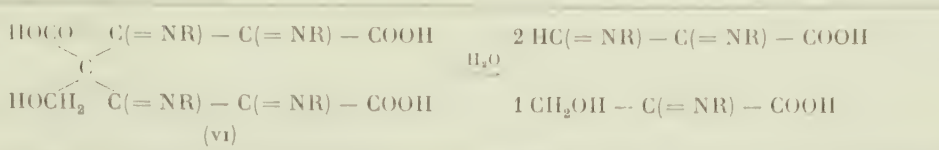
Au contraire, (IV) fournit la semicarbazone (VI). Son comportement polarographique et spectrophotométrique l'assimile à la disemicarbazone du semialdéhyde mésoxalique, qui précipite d'ailleurs par acidification de la solution au-dessous de pH 1. Cependant, l'excès de semicarbazide réagit sur (I) libéré par l'hydrolyse de (VI) en donnant la semicarbazone déjà décrite. Elle

est identifiée dans le filtrat par son polarogramme (fig. 5) et par son spectre ultra-violet, à condition de choisir comme agent oxydant de (III) l'eau de brome et non l'iode, les iodures masquant la bande d'absorption à 255 mμ.

droite donne pour k_2 la valeur suivante, à 40° C, de pH 0 à pH 2,5.

$$k_2 = 0{,}0115 \text{ mn}^{-1} ; \qquad t_{1/2} \sim 60 \text{ mn.}$$

L'équilibre A $\rightleftharpoons$ B étant déplacé en faveur de B et la

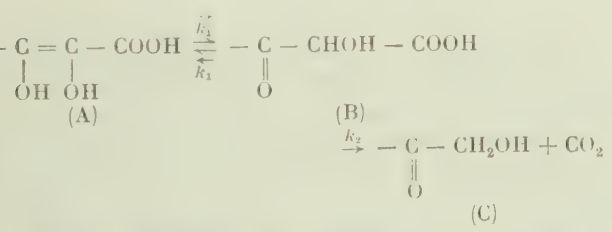


La rupture des liaisons de tricondensation intervient sur (VI) et non sur (IV). Dans ce dernier cas, en effet, comme dans celui de l'aci-réductone (III) envisagé précédemment, elle engendrerait une mole d'acide hydroxypyruvique. Or, après oxydation à l'iode l'alcalinisation ne fournit pas 1/3 d'ènediolate (III), mais provoque le départ de deux carboxyles, comme le montre le titrage en retour par un acide : (IV) → (V). La solution oxydée par l'iode en milieu acide est équivalente à celle obtenue par électrolyse anodique dans la soude N/5 (voir II$_3$).

C. **Décarboxylation.** — La vitesse de décarboxylation de l'acide hydroxypyruvique (I) est faible (voir III$_2$), à pH 1,2 et à 40° C :

$$k = 1{,}5 \times 10^{-4} \text{ mn}^{-1} ; \qquad t_{1/2} = 78 \text{ heures.}$$

Par contre, la vitesse de décarboxylation d'une solution d'ènediolate acidifiée est beaucoup plus élevée et ne peut s'accorder qu'avec l'existence en solution d'un acide β cétonique. Pedersen (26) a émis l'hypothèse que, dans le cas d'un équilibre céto-énolique, la forme se décarboxylant était la cétone. Dans le cas présent, la solution à l'équilibre est constituée par un mélange de $\simeq$ 80 p. 100 de (B) et de $\simeq$ 20 p. 100 de (A), avec $(\vec{k_1} + \overleftarrow{k_1}) = 0{,}136$ mn^{-1} à pH 1 et à 40° C.



La décarboxylation peut être suivie par polarographie et par spectrophotométrie. Par polarographie, on suit la décroissance de l'intensité de la vague anodique fournie par l'ènediolate obtenu après alcalinisation. Si i_0 désigne l'intensité initiale du courant anodique et i_t l'intensité au temps t, les valeurs de $\log_{10}\left(\frac{i_0}{i_t}\right)$ en fonction du temps se rangent suivant une droite dont la pente n'est pas affectée quand la concentration de (A + B) est multipliée par quatre. La pente de cette

vitesse k_1 étant $\gg k_2$ ($k_1 = 0{,}184$ mn^{-1} à pH 1,8 et à 40° C), on conçoit que la réaction de décarboxylation soit d'ordre 1 par rapport à B, si, selon l'hypothèse de Pedersen, la décarboxylation de l'ènediol A est négligeable devant celle de B.

Il est également possible de suivre la décarboxylation par spectrophotométrie : la réaction suivie à partir de la décroissance du spectre fourni par l'ènediol A en milieu acide sera encore d'ordre 1, par rapport à A, et les valeurs trouvées pour k par polarographie et par spectrophotométrie seront concordantes, tant que $\vec{k_1}$ demeure $\gg k_2$, c'est-à-dire jusqu'à pH 3. Au-delà, si d_e désigne l'absorption à 246 mμ, à l'équilibre, les valeurs de $\log\left(\frac{d_e}{d_t}\right)$ en fonction du temps s'écartent de la droite tracée pour $\log\left(\frac{i_0}{i_t}\right)$, $\vec{k_1}$ cessant d'être $\gg k_2$. D'ailleurs, le pourcentage d'ènediol présent à l'équilibre décroît rapidement (fig. 8), ce qui diminue la précision des mesures spectrophotométriques. Pour ces raisons, il est préférable d'opérer par polarographie.

La variation de k_2 en fonction du pH, (fig. 10), assimile le cas présent à celui de l'acide diméthylacétoacétique (27), chez qui la décarboxylation d'une forme énolique est exclue, et à ceux des acides bromomalonique et acétone dicarboxylique (28) (29) : l'anion se décarboxyle plus vite que la forme non dissociée.

Le dosage du CO_2 dégazé, entraîné par un courant d'azote dans un barboteur contenant de la soude 4 N, montre qu'il apparaît seulement $\simeq$ 0,7 mole CO_2 par mole d'acide hydroxypyruvique initiale, dans les condi-

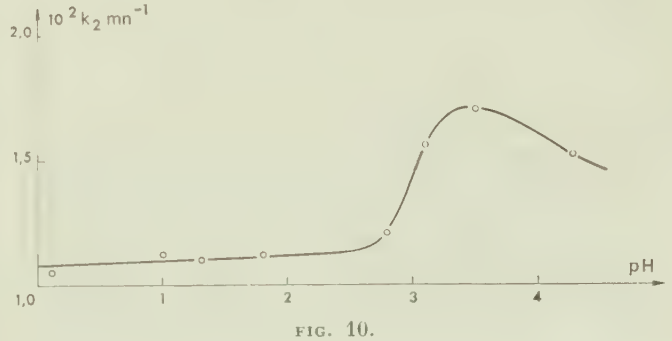
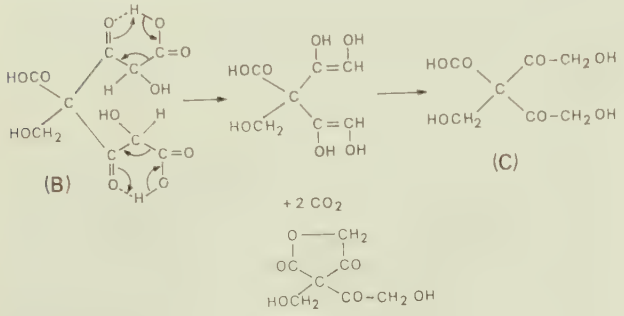


FIG. 10.

tions opératoires précédentes (40° C ; pH < 5). Pour qu'un CO_2 apparaisse, il faut chauffer au-dessus de 80° C. Aussi peut-on envisager, pour la réaction B → C, le schéma suivant :



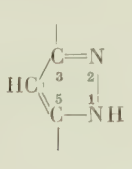
le troisième carboxyle pourrait être engagé dans une lactone. Quoi qu'il en soit, sa cyclisation intervient sûrement au cours des réactions avec les réactifs du carbonyle qui sont maintenant envisagées.

D. **Réaction avec les dérivés du type R — NH — NH_2.** — *Semicarbazide.* — L'action de la semicarbazide sur les solutions d'ènediolate (III), acidifiées entre pH 0 et pH 4, provoque, à la température ambiante, le départ de $\simeq$ 0,65 mole de CO_2, par mole d'acide hydroxypyruvique initiale. Par ses propriétés polarographiques et spectrophotométriques, la solution correspondrait à $\simeq$ 65 p. 100 d'une semicarbazone comparable à celle de l'aldéhyde glycolique.

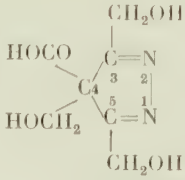
$$-CO-CHOH-COOH \xrightarrow{NH_2-NH-CO-NH_2} -C(=N-NH-CO-NH_2)-CH_2OH + CO_2$$

Le résultat est identique si la semicarbazide réagit sur la solution décarboxylée au préalable.

Hydrazine. — Si les solutions acidifiées correspondent à l'acide β-cétonique (B), on doit pouvoir préparer une pyrazolénine (30). En effet, du fait de la double substitution sur le C4, la formation d'un véritable pyrazole est exclue.



pyrazole



pyrazolenine

La caractérisation par spectrophotométrie ultraviolette du pyrazole en solution serait très ardue. En solution acide, le pyrazole absorbe à 217 mμ, mais les substitutions sur les carbones 3 et 4 ont un effet bathochrome (31) et (32) ; voir tableau I.

Tableau I

	λ mμ	ε
Pyrazole	217	8 250
4 méthyl pyrazole	226	8 100
3-4 diméthyl pyrazole	229	8 900
$CH_2OH-CH=N.NH_2$	226	12 500

Après réaction de l'hydrazine sur une solution d'ènediolate acidifiée, on observe l'apparition de trois bandes auxquelles correspondent les ε suivants : 3 400 à 210 mμ ; 2 400 à 226 mμ et 3 200 à 275 mμ. La première est attribuable aux ions Br^- présents dans la solution, la seconde, soit à une pyrazolénine, soit à l'hydrazone ; la troisième pourrait appartenir à une pyrazolone. Dans ce cas, la cyclisation peut affecter, soit les carboxyles de la chaîne cétolique, soit le carboxyle fixé sur le carbone quaternaire.

Pour lever l'ambiguïté, la solution d'ènediolate a été décarboxylée au préalable. Après le départ de $\simeq$ 0,7 CO_2 à 40° C la solution est devenue incapable de régénérer l'ènediolate (III) par alcalinisation. Cependant, la même absorption persiste à 275 mμ, après réaction avec l'hydrazine. Il semble que la cyclisation intéresse le carboxyle porté par le carbone quaternaire, dont on a déjà envisagé la résistance à la décarboxylation (VII).

La pyrazolone obtenue ne possèdant pas de caractère basique n'a pu être isolée sous forme de combinaisons salines ; par contre, elle précipite en milieu alcoolique légèrement éthéré, mais elle est alors souillée de bromure de sodium. Cet écueil est évité en partant du sel de sodium (II) (voir chap. VI).

Phénylhydrazine. — La formation éventuelle d'osazone devrait permettre de confirmer la nature β-cétonique du tautomère en équilibre avec l'ènediol. En effet, il a été établi (16 et 17), et confirmé au cours de ce travail, que l'acide hydroxypyruvique (I) ne fournissait pas d'osazone, alors que le semialdéhyde tartronique donne quantitativement, à la température ambiante, l'osazone du semialdéhyde mésoxalique (33).

Si de l'acétate de phénylhydrazine est ajouté à une solution d'ènediolate acidifiée, un précipité amorphe apparaît, à partir duquel on isole, après recristallisation dans des mélanges eau-alcool, l'osazone du glyoxal ; p. f. 170° C.

Calc. pour $C_{14}H_{14}N_4$ p. 100 : C, 65,60 ; H, 6,25 ; N, 21,90. — Tr. : C, 65,58 ; H, 6,32 ; N, 21,92.

Cette expérience est peu probante, car elle fait réagir un mélange en équilibre dans lequel il n'est pas exclu que l'ènediol réagisse avec la phénylhydrazine. Or, la réaction des ènediols et de la phénylhydrazine est complexe : l'acide ascorbique forme l'osazone de l'acide déhydroascorbique (33), tandis que la triose-réductone ne donne un dérivé cristallin qu'après oxydation préalable par l'iode (34).

La réaction de la phénylhydrazine, en milieu acétique, sur le dérivé tricondensé (II) doit être plus rigoureuse, car ce sel correspond à la forme cétol pratiquement pure. Cependant, il n'a pas été précisé en (IV_2) si ce sel était α- ou β-cétonique. Aussi était-il intéressant de chercher à isoler un sel de sodium à partir des solutions d'ènediolate acidifiées vers *p*H 5,5, qui, elles, sont constituées à 98 p. 100 par un acide β-cétonique.

VI. — Isolement d'un sel de sodium à partir de l'ènediolate (III) acidifié en tampon acétique

1° **Préparation.** — 10 mmoles $CH_2Br - CO - COOH$, H_2O sont alcalinisées à la température ambiante, par 12,5 ml de soude 2 N préalablement désoxygénée. Vérifier que le *p*H est supérieur à 12,5 pour que la formation d'ènediolate soit quantitative. Au bout de 10 minutes, acidifier par 8 mmoles d'acide acétique. Compléter à 20 ml avec de l'eau. Ajouter 80 ml d'alcool méthylique désoxygéné. Il apparaît un abondant précipité blanc qui, lavé à l'alcool méthylique et séché sous vide phosphorique ne contient pas de bromure. L'analyse donne :

Calc. pour $C_9N_{11}O_{12}Na_2$ p. 100 : C, 27,80 ; H, 3,16 ; Na, 17,7. — Tr. : C, 27,86 ; H, 3,32 ; Na, 17,7.

Dans des conditions analogues, le sel de sodium de l'acide hydroxypyruvique (I) serait soluble. Si 10 mmoles $CH_2Br - CO - COOH$, H_2O sont dissoutes dans 15 mmoles Na_2CO_3, puis acidifiées au bout de 5 minutes par 20 mmoles d'acide acétique, aucun précipité n'apparaît après dilution au cinquième dans l'alcool méthylique.

2° **Analogie avec le sel de sodium tricondensé (II) décrit au paragraphe (IV_2).** — Comme dans le cas du sel de sodium obtenu par alcalinisation ménagée (2 équiv. OH^-)de 1 mole $CH_2Br - CO - COOH$, H_2O, la solution obtenue après dissolution du sel dans l'eau ne présente aucune absorption notable dans l'ultraviolet, si ce n'est celle due à $\simeq$ 1 p. 100 d'ènediol présent en milieu acétique au moment de la précipitation. Par alcalinisation, la solution donne quantitativement l'ènediolate (III).

3° **Étude des solutions acidifiées.** — Contrairement aux solutions acétiques dont il est issu, les solutions de sel sodique acidifiées au-dessous de *p*H 2 ne présentent plus les manifestations d'un équilibre cétol $\rightleftharpoons$ ènediol.

A. Il n'apparaît pas de bande à 246 mμ.

B. L'iode même en excès, est sans effet.

Ces deux propriétés rappellent le comportement de l'acide α-cétonique (I). Les suivantes, au contraire, sont spécifiques d'un acide β-cétonique.

C. **Décarboxylation.** — Elle a été suivie en notant l'intensité de la vague anodique de l'ènediolate (III) après dilution de la solution acide de (II) dans la soude $\frac{N}{5}$. La réaction est d'ordre 1 par rapport à (II). A 40° C et à *p*H 1,20 :

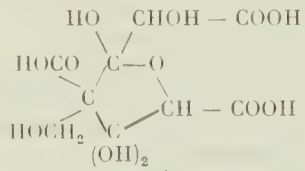
$$k = 0{,}38 \times 10^{-2}\ \text{mn}^{-1} ; \qquad t_{1/2} = 248\ \text{mn}.$$

Dans les mêmes conditions, une solution d'ènediolate (III) acidifiée donnerait $k = 1{,}1 \times 10^{-2}$ mn^{-1} et une solution de (I) acidifiée $k = 1{,}5 \times 10^{-4}$ mn^{-1}.

Remarques. — 1° Puisqu'il n'existe plus d'équilibre cétol $\rightleftharpoons$ ènediol, la valeur trouvée pour k concerne exclusivement le cétol.

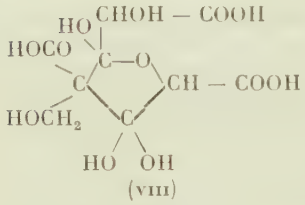
2° L'identité de ce sel avec le sel décrit en (IV_2) est confirmée par l'égalité des valeurs obtenues pour les vitesses de décarboxylation.

D. **Action des dérivés du type $R - NH - NH_2$.** — *Semicarbazide.* — Initialement, à la température ambiante, on observe une semi-carbazone correspondant à $\simeq$30 p. 100 de $-CHOH - CH=N - NH - CO - NH_2$. Un carbonyle serait bloqué dans un cycle furannique :

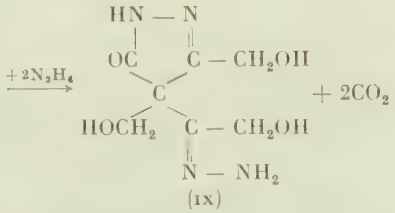


(VIII)

Hydrazine. — A 20° C, on observe une bande à 230 mμ. Elle correspond à $\simeq$ 30 p. 100 — $CHOH-CH=N-NH_2$. Après 45 minutes de chauffage à 60° C en milieu acétique, il apparaît une deuxième bande ($\varepsilon = 2\,500$ à 280 mμ) correspondant à la formation de la pyrazolone envisagée au chapitre précédent. Après précipitation en milieu alcoolique-éthéré, au (9:1), elle est cette fois-ci exempte de bromure.



(VIII)



(IX)

Calc. pour (IX) $C_7H_{12}N_4O_4$, 2 H_2O p. 100 : C, 31,3 ; H, 5,90 ; N, 20,6. — Tr. : C, 31,15 ; H, 5, 65 ; N, 20,80.

Le produit analysé est très hygroscopique.

Phénylhydrazine. — Par réaction à 80° C sur un sel de lithium analogue au sel de sodium étudié ici, Dickens et Williamson, pensent avoir obtenu le sel de phénylhydrazonium $CH_2OH - C(:N - NH - C_6H_5) - COOH$, $NH_2 - NH - C_6H_5$ (17). Ils fondent leur opinion sur le fait que le point de fusion du solide cristallin obtenu (117° C avec décomposition) est très différent de celui de la bisphénylhydrazone du semialdéhyde mésoxalique : 218° C, après recristallisation dans le chloroforme (36).

Ce résultat est étonnant, car il remet en question la nature β-cétonique du sel préparé. Or, Nastvogel (37) et Dakin (38) ont décrit la transformation de la bisphénylhydrazone du semialdéhyde mésoxalique en pyrazolone, par chauffage dans l'alcool chlorhydrique. Comme Dickens et Williamson chauffent à 80° C, il n'était pas exclu qu'ils aient obtenu, au moins partiellement, la pyrazolone.

Cette pyrazolone, insoluble dans l'alcool, s'est avérée extractible à l'éther éthylique : après réaction à 60° C de la phénylhydrazine sur le sel de sodium, le produit mal cristallisé obtenu a été extrait à l'éther. Par évaporation du solvant, apparaissent des cristaux jaune-orangé. La comparaison des spectres ultra-violets ($\varepsilon = 18\,000$ à 250 et 390 mμ) et des points de fusion (150° C) confirme l'identité avec la pyrazolone décrite par Nastvogel et Dakin.

Ainsi, le cycle furanne serait suffisamment stable pour s'opposer à l'établissement de l'équilibre cétol-ènediolique, à 22° C. Pour l'ouvrir, il faudrait, soit alcaliniser au-dessus de *p*H 12 (on obtient alors l'ènediolate (III)), soit chauffer à 80° C en présence de phénylhydrazine. L'osazone du semialdéhyde mésoxalique, obtenue à partir des deux chaînes —CO—CHOH—COOH se cyclliserait alors, tandis que l'acide hydroxypyruvique formé au cours de l'hydrolyse de (VIII) donnerait une monophénylhydrazone soluble.

VII. — Conclusion

La figure 8 représente les différentes formes susceptibles d'exister en fonction du *p*H, une fois la tricondensation réalisée.

La polarographie élimine pratiquement pour l'ènediolate, toute autre formule que (III). Plusieurs réactions sont en faveur d'une structure β-cétonique pour les solutions de (III) acidifiées :

— leurs vitesses de décarboxylation élevée ;

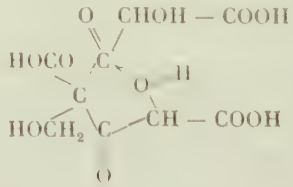
— l'existence d'un équilibre cétol $\rightleftharpoons$ ènediol, ne se produisant pas avec l'acide α-cétonique (I) ;

— l'absence de semicarbazone du type :

$$- C(:NR) - COOH ;$$

— la cyclisation de l'hydrazone sur le carboxyle du carbone quaternaire.

L'étude du sel de sodium précipité après alcalinisation ménagée de l'acide bromopyruvique ou acidification de (III) est fructueuse car elle élimine les ions Br^-. La cryoscopie devient plus précise et les spectres ultra-violets sont débarrassés d'une bande gênante. La polarographie de sa semicarbazone exclut l'existence d'une fonction acide α-cétonique et est en faveur d'une forme qui posséderait un carbonyle réactif à la semicarbazide sur trois. Cette constatation, jointe à la disparition de l'équilibre cétol $\rightleftharpoons$ ènediol en milieu acide est en faveur d'un cycle furannique qui serait engendré à la suite d'une attaque nucléophile d'un carbonyle :

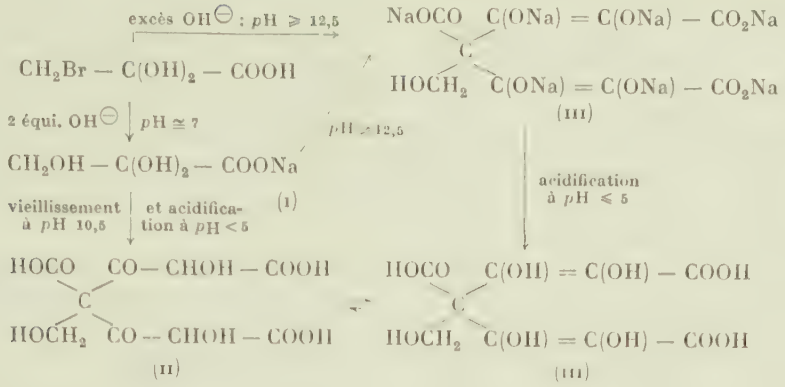


Les spectres I. R. et R. M. N. indiquent seulement que les carbonyles sont hydratés et qu'il n'existe ni lactone ni hydroxylactone (38).

Le cycle furannique serait rompu par alcalinisation, avec retour à la forme (III), ou par chauffage en présence de dérivés du type $NH_2 - NH - R$.

En définitive, les différentes formes obtenues, à partir de l'acide bromopyruvique, sont rassemblées dans le tableau II :

TABLEAU II



II. — DÉCARBOXYLATION DE L'ACIDE DIHYDROXYFUMARIQUE

I. — Introduction

Une importance biologique est attribuée à l'acide dihydroxyfumarique depuis que Neuberg et Schwenk constatèrent qu'il subissait une fermentation sous l'action de la levure (40). En 1930, Stepanow et Kusin (41) observèrent la formation d'acide hydroxypyruvique et d'acide dihydroxyfumarique à partir du glyoxylate, dans le foie. Récemment, Akabori a décrit un nouveau processus enzymatique dans la glycogenèse (42), suggérant la formation de pentose à partir des produits de décarboxylation de l'acide dihydroxyfumarique et du glycolaldéhyde.

On sait depuis longtemps que l'acide dihydroxyfumarique se décarboxyle en aldéhyde glycolique. Dernièrement, un stade en C3 a été envisagé ; il est généralement admis qu'il est constitué par du semi-aldéhyde tartronique, sans qu'une preuve rigoureuse en soit fournie (43 à 45), certains auteurs n'excluant pas la présence d'acide hydroxypyruvique (43).

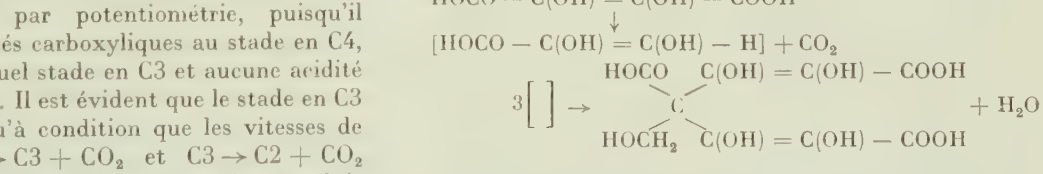
Utilisant les études précédentes sur l'hydroxypyruvate et ses produits de condensation, la nature du stade en C3, ainsi que son domaine de stabilité ont été précisés.

La décarboxylation de l'acide dihydroxyfumarique est aisément suivie par potentiométrie, puisqu'il correspond deux acidités carboxyliques au stade en C4, une acidité à un éventuel stade en C3 et aucune acidité à l'aldéhyde glycolique. Il est évident que le stade en C3 ne peut être étudié qu'à condition que les vitesses de décarboxylation $C4 \rightarrow C3 + CO_2$ et $C3 \rightarrow C2 + CO_2$ soient suffisamment distinctes. C'est ce qui se produit dans deux zones de pH : pH $\geqslant 10$ et pH $\leqslant 2{,}5$ pour lesquelles la vitesse d'élimination du premier CO_2 est très supérieure à celle du second. Au contraire, pour des valeurs de pH comprises entre 2,5 et 10,0, la décarboxylation de C4 en C3, qui doit obéir aux lois de la catalyse acido-basique généralisée, est si ralentie que le stade en C3 se décarboxyle avec une vitesse comparable : dans ce domaine de pH, C3 obtenu est toujours souillé de C2 et n'est même plus susceptible d'existence au voisinage de la neutralité, sa vitesse de décarboxylation égalant sa vitesse de formation.

II. — Décarboxylation en milieu alcalin : pH $\geqslant$ 12

Dans un grand intervalle de pH, l'acide dihydroxyfumarique donne une vague d'oxydation de la fonction ènediol (fig. 4), d'autant plus négative que le pH croît. A pH 13, $E_{1/2} = -0{,}42$ V. Cette vague disparaît rapidement, au profit d'une autre beaucoup plus négative ($E_{1/2} = -0{,}61$ V), correspondant à l'ènediolate dérivé de l'acide hydroxypyruvique (III) qui serait formé par décarboxylation suivie de condensation (46).

La spectrophotométrie ultra-violette montre le déplacement du maximum d'absorption de 290 mμ ($\varepsilon = 6\,500$) à 272 mμ ($\varepsilon = 8\,800$). Soit, sans tenir compte de l'ionisation :



et le titrage potentiométrique confirme l'apparition de 1 mole de CO_2 par mole d'acide dihydroxyfumarique initiale.

Ainsi, la cinétique de la réaction peut être suivie :

— par polarographie : $E_{1/2} = -0{,}42$ V $\rightarrow -0{,}62$ V,

— par spectrophotométrie : ε_{max} 290 mμ $\rightarrow$ 272 mμ,

— par potentiométrie (dosage du carbonate apparu et des acidités carboxyliques restantes).

La réaction est d'ordre 1 par rapport au dihydroxyfumarate et les valeurs suivantes ont été trouvées, à 24° C et pour $\mu \simeq 0{,}3$.

TABLEAU III

pH	$10^2\,k$	$\log k$	$t_{1/2}$ mn
12,30	1,38	— 1,87	50
12,80	2,46	— 1,61	28
13,15	4,15	— 1,38	17
13,70	7,00	— 1,16	10
14,00	7,00	— 1,16	10

Entre pH 12,30 et 13,70, $\Delta \log k = 0{,}5\,\Delta p$H.

III. — Décarboxylation à pH compris entre 10 et 12

Puisque la forme stable de l'hydroxypyruvate tricondensé au-dessous de pH 12 est le tautomère cétol, il est exclu que la vague de l'ènediolate apparaisse comme dans le cas précédent. Pour suivre par polarographie la décarboxylation de telles solutions, il suffit de les diluer à un taux convenable dans une solution alcaline de façon que le pH de la solution finale soit compris entre 12,80 et 13,00. A ce pH, la vitesse de transformation C4 → C3 est suffisamment lente, à 20° C, pour que, en opérant rapidement, on puisse doser C4

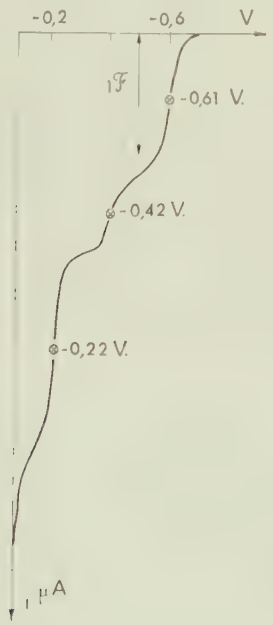


FIG. 11.

par sa vague anodique ($E_{1/2} = -0{,}42$ V), comprise entre les deux vagues anodiques de C3 ($E_{1/2} = -0{,}21$ et $-0{,}61$ V), tandis que C2 fournit une vague cathodique $E_{1/2} = -1{,}73$ V (fig. 11).

Remarque. — L'aldéhyde glycolique fournit aussi une vague anodique d'oxydation de l'éthylène-diol.

$$\begin{matrix} HC = CH \\ | \quad | \\ HO \quad OH \end{matrix} \rightarrow \begin{matrix} HC - C - H \\ \| \quad \| \\ O \quad O \end{matrix} + 2H^+ + 2e^-.$$

Ces deux vagues disparaissent rapidement, l'aldéhyde glycolique se condensant en hexose, comme le montre la cryoscopie.

D'après son comportement :

— spectrophotométrique : absence de bande notable dans l'ultra-violet ;

— polarographique : capacité de fournir 100 p. 100 d'ènediolate (III) par alcalinisation ;

— chimique : faible réactivité vis-à-vis de la semicarbazide.

Le stade en C3, aux pH compris entre 10 et 12 correspond au dérivé tricondensé de l'hydroxypyruvate (II). En milieu acide, des phénomènes nouveaux apparaissent.

IV. — Décarboxylation à pH ⩽ 4,5

1° Le stade en C3 donne une **vague anodique** dont le $E_{1/2}$ est confondu avec celui de l'acide dihydroxyfumarique ; sa hauteur correspond à $\simeq 25$ p. 100 de la hauteur de la vague fournie par l'acide dihydroxyfumarique.

2° Le stade en C3 **absorbe** à une longueur d'onde différente de la bande de l'acide dihydroxyfumarique : $\varepsilon = 1\,500$ à 250 mμ, à pH < 2,5 ; son absorption à 290 mμ est le 1/20 de celle de C4. Bien que cette valeur soit faible, il en a été tenu compte lors de l'étude cinétique de la réaction C4 → C3 + CO_2. Au-dessus de pH 2,5, ε décroît rapidement.

Ces deux phénomènes caractérisent la présence d'une aci-réductone, mais les absorptions sont trop faibles pour que le stade en C3 soit constitué uniquement par l'acide dihydroxyacrylique

$$HC(OH) = C(OH) - COOH$$

comme le confirme la faible hauteur de la vague anodique. Avant d'approfondir la nature du stade en C3, il fallait s'assurer de son degré de condensation.

3° **Titrage cryoscopique.** — Le problème délicat consistait à préparer une solution concentrée correspondant au seul stade en C3, dont il a fallu déterminer les conditions d'obtention. La décarboxylation est suivie par dosage du CO_2 dégagé, entraîné par un barbotage

d'azote dans un piège contenant de la soude 4 N, et par polarographie après dilution dans la soude $\frac{N}{10}$. On a ainsi déterminé que le stade en C3 était atteint au bout de 55 minutes à 40° C pour une solution de C4 $\frac{M}{8}$, dans H_2SO_4 $\frac{N}{10}$. Après addition de 50 g de Na_2SO_4 anhydre dans 50 ml d'une telle solution, on titre par NaOH 5 N, au point de transition de Na_2SO_4 décahydraté (fig. 12).

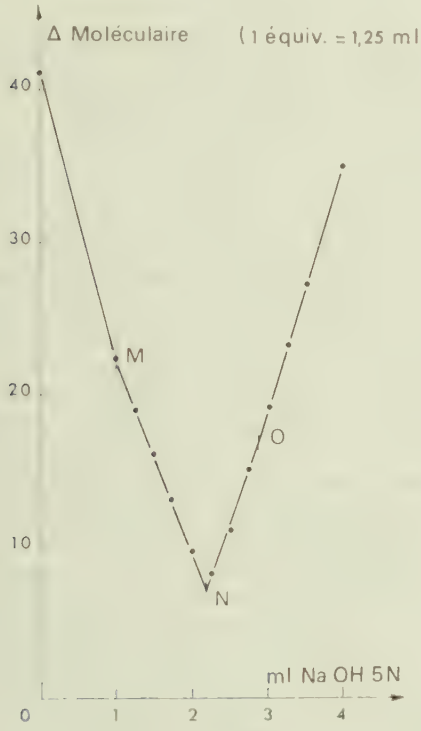


FIG. 12.

Le premier millilitre versé correspond à la neutralisation de l'acide minéral. En M, l'abaissement moléculaire Δ est de 22,4. Il faut retrancher de cette valeur l'abaissement dû aux protons libres, soit 4, pour une solution d'acide fort 0,03 N de même *p*H (2,35), dans Na_2SO_4 M : $\Delta = 22,4 - 4 = 18,4$. Alors que le stade en C3 est monomère, par addition de 1 équiv. OH^-, Δ tombe à 7, en N, soit sensiblement le tiers d'un abaissement normal : la tricondensation en hydroxypyruvate (II), irréversible, est mise en évidence avec plus de précision qu'au cours du titrage de l'acide bromopyruvique puisque la correction due aux ions Br^- est supprimée.

Le titrage en retour par H_2SO_4 5 N de la même solution, mais alcalinisée au préalable par 20 méquiv OH^-, est légèrement différent, car le produit initial est alors l'hydroxypyruvate ènediolate (III) (fig. 13) ; la pente suivie en M'N' est à peine inférieure à la pente théorique ; elle correspond alors aux acidités ènedioliques les plus faibles, mais elle diminue entre 5/3 et 3/3 équiv. OH^-, en N'O', quand interviennent les acidités ènedioliques les plus fortes. Quant au palier O'P', qui s'étend sur $\simeq 2/3$ acidité, il correspondrait aux deux acidités carboxyliques faibles de l'ènediolate (III), déjà décrites lors de son titrage.

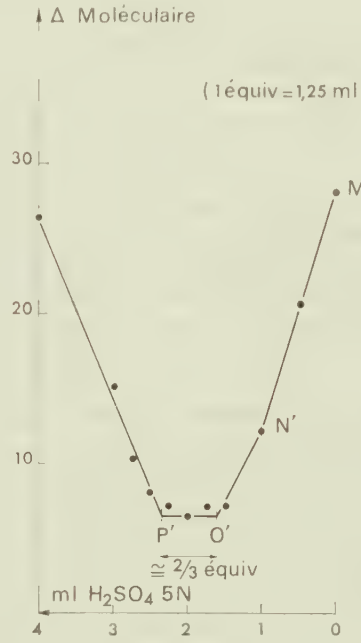


FIG. 13.

4° **Oxydation par l'iode.** — Le titrage direct confirme les résultats précédents. Le stade en C3 comprend $\simeq 25$ p. 100 d'aci-réductone correspondant à une décoloration instantanée de l'iode. Par contre, le titrage en retour par le thiosulfate, après que la solution additionnée d'un excès d'iode ait été abandonnée pendant 6 heures à l'obscurité, montre que la consommation d'iode est de 2 équiv. par mole d'acide en C3.

Ainsi l'acide dihydroxyacrylique (A)

$$HC(OH) = C(OH) - COOH$$

est en équilibre avec son tautomère (B)

$$CHO - CHOH - COOH \quad \text{ou} \quad CH_2OH - CO - COOH$$

puisque la consommation finale est de 2 équiv. I_2 par mole C3. D'autre part, cette réaction confirme les résultats de la cryoscopie. S'il y avait eu tricondensation, la consommation d'iode n'aurait pas excédé $(2/3 \times 2)$ équiv.

A *p*H 5,0 la consommation d'iode est toujours de 2 équiv. I_2 par mole C3. Ce n'est qu'à partir de *p*H 6,5 qu'elle commence à décroître. Au-delà de la neutralité,

pour éviter d'utiliser l'iode en milieu alcalin, les solutions d'acides C3 étaient alcalinisées en titrant par NaOH $\frac{N}{10}$. Sitôt atteinte la valeur de *p*H recherchée, la solution était réacidifiée par HCl N. L'iode, enfin, était ajouté en excès. Une solution ainsi alcalinisée à *p*H 10 a consommé 1,3 équiv. I_2 par mole C3.

D'après ces expériences, la tricondensation n'intervient qu'au-dessus de la neutralité pour donner le mélange en équilibre des deux tautomères (II) $\rightleftarrows$ (III) de l'hydroxypyruvate. Cette hypothèse est confirmée par la réaction de la solution oxydée avec la semicarbazide : avant condensation, c'est-à-dire en milieu acide, la vague obtenue lors de la réduction de

$$-\,C(:NR)-C(:NR)-COOH$$

correspond à $2e$; après alcalinisation au-dessus de la neutralité, elle ne fait plus que $1{,}3e$.

Quant à la décroissance du spectre de l'ènediol au-dessus de *p*H 2,5, elle serait due à l'ionisation d'un des tautomères qui déplacerait l'équilibre en faveur de (B).

5° **Étude de la réaction d'équilibre.** — A. **Étude de la réaction cétol $\xrightarrow{k}$ ènediol.** — Étant donné les conditions d'obtention des acides en C3, il est impossible de partir d'acide dihydroxyacrylique pur. On ne peut donc, ni étudier la réaction (A) $\xrightarrow{k}$ (B), ni déterminer la constante d'équilibre K par spectrophotométrie. La polarographie, par contre, doit permettre de calculer K. En effet, les variations de D (*) étant négligeables, dans la série des aci-réductones, on peut admettre que, à concentrations égales, les intensités des courants d'oxydation à l'électrode à goutte, de :

$$HOCO-C(OH)=C(OH)-COOH$$

et :

$$HC(OH)=C(OH)-COOH,$$

sont les mêmes.

Dans ces conditions, K sera calculé à partir des valeurs expérimentales de i_e, désignant l'intensité du courant d'oxydation de $HC(OH)=C(OH)-COOH$ à l'équilibre, et de i_0, intensité initiale du courant d'oxydation de $HOCO-C(OH)=C(OH)-COOH$ déterminée par extrapolation.

$$K=\frac{k_B}{k_A}=\frac{i_0-i_e}{i_e}$$

au-dessous de *p*H 2, pour des solutions 5×10^{-3} M, $\mu=0{,}3$:

$$K=\frac{46-13}{13}=2{,}54.$$

D'autre part, il est possible de déterminer (B) $\xrightarrow{k}$ (A), après oxydation de l'ènediol présent à l'équilibre par la quantité calculée d'eau de brome, en mesurant la vitesse de réapparition de la bande à 250 mμ. La réaction est d'ordre 1. A *p*H 1,80, $\mu=0{,}3$.

24° C : $k_B+k_A=0{,}140\ mn^{-1}$
40° C : $k_B+k_A=0{,}55\ mn^{-1}$.

D'où l'on tire :

$$\Delta H=15{,}5\ kcal$$

et à 24° C :

$$k_A=\frac{0{,}14}{3{,}54}=0{,}04\ mn^{-1}$$
$$k_B=0{,}14-0{,}04=0{,}10\ mn^{-1}.$$

La connaissance de K, établie par polarographie, permet de calculer quelle serait l'absorption ε_0 de l'acide dihydroxyacrylique, à partir de la relation :

$$\frac{\varepsilon_0-1\,500}{1\,500}=2{,}54$$

$$\varepsilon_0=5\,300,\ \text{à}\ pH\ 1.$$

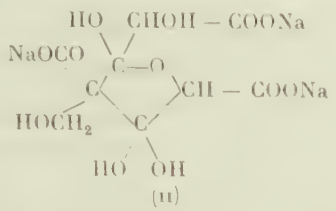
B. **Essais d'augmentation du pourcentage d'ènediol à l'équilibre.** — L'influence des solvants sur les équilibres céto $\rightleftarrows$ énol est connue depuis longtemps. Avec l'acétylacétone par exemple, la proportion d'énol, qui est de 15 p. 100 dans l'eau, passe à 84 p. 100 dans l'éthanol et à 96 p. 100 dans l'hexane (47). Une solution alcoolique d'acide dihydroxyfumarique (10^{-2} M), contenant une quantité déterminée d'acide acétique 0,5 M (4 ml dans 50 ml), est décarboxylée à 40° C. L'absorption initiale est de 8 200 à 302 mμ. L'acide dihydroxyacrylique qui apparaît absorbe à 255 mμ.

L'examen des deux bandes, à 255 et 302 mμ, au bout de 3 heures, montre que la solution renferme $\simeq$ 50 p. 100 de C4 et $\simeq$ 50 p. 100 d'acide dihydroxyacrylique. Au-delà, la décarboxylation de l'acide dihydroxyacrylique n'est plus négligeable, si bien qu'il est impossible de l'obtenir pur, mais seulement mélangé à de l'aldéhyde glycolique. Le stade en C3 est néanmoins constitué presque exclusivement d'ènediol. Aussi le milieu alcoolique a-t-il été utilisé pour essayer de précipiter un sel insoluble d'acide dihydroxyacrylique, dont aucun dérivé salin n'a été décrit jusqu'ici, à notre connaissance.

C. **Isolement d'un sel de sodium.** — Une solution 0,05 M d'acide dihydroxyfumarique dans 250 ml d'alcool éthylique contenant 15 ml d'acide acétique 0,5 M est conservée 6 heures à 40° C. La solution présente alors deux bandes, de $\varepsilon=3\,000$ chacune, à 255 et 302 mμ. Le *p*H est ajusté à 3,50 avec de la soude 4 N et le précipité formé est éliminé par filtration. Le spectre ultra-violet confirme la précipitation du dihydroxyfumarate de sodium, puisque la bande absorbant à 302 mμ a disparu.

(*) Coefficient de diffusion.

Le filtrat est alcalinisé à pH $\simeq 6{,}0$. Un nouveau précipité apparaît. Il est lavé à l'alcool, l'éther éthylique et séché 24 heures sous vide phosphorique. Ses propriétés l'assimilent au dérivé tricondensé de l'hydroxypyruvate de sodium (II) : par alcalinisation de sa solution, on



(II)

obtient 100 p. 100 d'ènediolate tricondensé (III). Acidifié à pH < 3, il n'est pas en équilibre avec l'ènediol tautomère. Après réaction avec la semicarbazide, il fournit une faible quantité de $-$ CHOH $-$ CH $=$ NR, tandis qu'après chauffage apparaît une pyrazolone. Cette dernière réaction élimine la structure α-cétonique et confirme la tricondensation, puisque le monomère

$$CHO - CHOH - COOH$$

donnerait

$$CH_2OH - CH = NR + CO_2.$$

L'analyse confirme l'identité des deux sels.

Calc. pour (II) $C_9H_9O_{12}Na_3$ p. 100 : C, 28,50 ; H, 2,40 ; Na, 18,2. — Tr. : C, 28,08 ; H, 3,10 ; Na, 17,70.

6° Étude du tautomère en équilibre, en milieu acide, avec l'acide dihydroxyacrylique.

A. **Décarboxylation.** — Comme il a été précisé, l'étude de la décarboxylation C3 $\rightarrow$ C2 $+$ CO_2, n'est possible que dans la mesure où la vitesse d'élimination du premier CO_2 est beaucoup plus grande que celle du second, ce qui est le cas au-dessous de pH 2,0. Les valeurs de $k_{C4\rightarrow C3}$ obtenues pour la réaction C4 $\xrightarrow{k}$ C3 $+$ CO_2, à 40° C, sont rassemblées dans le tableau IV ; la réaction est d'ordre 1 par rapport à C4. Elle a été suivie par spectrophotométrie : disparition de la bande à 290 mμ.

TABLEAU IV

pH	$10^2\,k$ mn^{-1}	log k	$t_{1/2}$ mn
—	—	—	—
0	13,3	— 0,88	$\simeq 5$
0,3	12,0	— 0,92	
0,8	10,0	— 1,00	$\simeq 7$
1,0	9,65	— 1,02	$\simeq 7$
1,8	9,00	— 1,05	
2,00	8,90	— 1,05	$\simeq 8$
2,67	8,05	— 1,10	
3,13	6,60	— 1,18	10
4,10	2,75	— 1,56	25
4,47	1,68	— 1,775	41
5,65	0,38	— 2,42	182
7,60	0,184	— 2,74	376
9,97	2,69	— 1,57	26
10,65	3,60	— 1,44	19

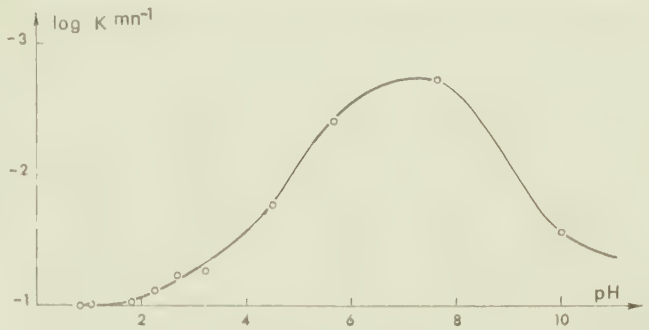


FIG. 14.

Les variations de log k en fonction du pH ont été reportées sur la figure 14. La réaction C3 $\xrightarrow{k}$ C2 $+$ CO_2 peut être suivie jusqu'à pH 2,0, par polarographie, en mesurant l'intensité de la vague anodique de l'aci-réductone (III) après alcalinisation ou par spectrophotométrie ultra-violette, en suivant la diminution de l'absorption à 250 mμ.

Le tableau V donne les valeurs trouvées pour k dans ces conditions.

TABLEAU V

pH	$10^2\,k$	$\frac{k_{C_4\rightarrow C_3}}{k_{C_3\rightarrow C_2}}$	log k	$t_{1/2}$ mn
—	—	—	—	—
0,3	0,53	$\frac{12}{0{,}53} = 22$	— 2,28	130
1,0	0,87	$\frac{9{,}65}{0{,}87} = 11$	— 2,06	80
1,4	1,10		— 1,96	63
1,8	1,22	$\frac{90}{122} = 7{,}4$	— 1,92	57

Le rapport $k_{C4\rightarrow C3}/k_{C3\rightarrow C2}$ qui, à pH 1,80, est encore de 7,4 décroît rapidement au-dessus de pH 2, si bien que les deux réactions ne peuvent plus être considérées comme successives. Par exemple, si la décarboxylation est suivie en tampon acétique pH 3,50, quand la bande ultra-violette de l'acide dihydroxyfumarique a disparu, l'absorption de l'acide dihydroxyacrylique n'est plus que de 700 à 250 mμ, tandis qu'un dosage polarographique dans la soude $\frac{N}{5}$ donne 50 p. 100 de C3 $+$ 50 p. 100 de C2. Aussi, pour étudier la variation de la vitesse C3 $\xrightarrow{k}$ C2 $+$ CO_2 au-dessus de pH 2,0, a-t-on procédé de la façon suivante.

Le stade en C3 était obtenu préalablement à pH 1 (45 minutes à 40° C) ; puis le pH était amené à la valeur désirée par addition de monochloracétate ou d'acétate de sodium et éventuellement alcalinisation à la soude.

C'est dans ces conditions qu'ont été déterminées les valeurs de ε pour l'acide dihydroxyacrylique présent

à l'équilibre (tableau VI), ainsi que les valeurs de $k_{C3 \to C2 + CO_2}$ jusqu'à pH 4,5 (fig. 15).

TABLEAU VI

pH	ε 250 mμ	$10^2\,k$	log k	$t_{1/2}$ mn
2,25	1 500	1,30	— 1,89	53
2,70	1 400	1,35	— 1,87	51
3,09	1 200	1,40	— 1,85	49
3,45	1 000	1,50	— 1,82	46
4,24	500	1,75	— 1,76	40

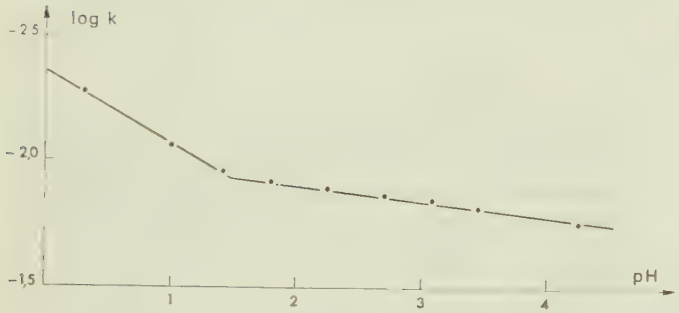


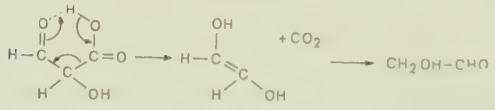
FIG. 15.

La comparaison de ces valeurs avec la vitesse de décarboxylation, beaucoup plus faible, de l'acide hydroxypyruvique ($k = 1{,}5 \times 10^{-4}$ mn^{-1} à pH 1,5 et à 40° C) présume la présence du semialdéhyde tartronique, qui serait le tautomère actif dans la décarboxylation (26 à 29).

$$\underset{\substack{\text{HO}\\ \text{(A)}}}{\text{HC}=\text{C}(\text{OH})-\text{COOH}} \underset{k_1}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{(B)}}{\text{CHO}-\text{CHOH}-\text{COOH}} \xrightarrow{k_2} \underset{\text{(C)}}{\text{CHO}-\text{CH}_2\text{OH}} + \text{CO}_2$$

L'équilibre (A) $\rightleftarrows$ (B) étant déplacé en faveur de (B) et la vitesse $\vec{k_1}$ étant $\gg \vec{k_2}$, il n'est pas étonnant que la réaction de décarboxylation globale, suivie par polarographie, soit d'ordre 1 par rapport à (A + B) et que la décarboxylation de (A), suivie par spectrophotométrie, soit également d'ordre 1 par rapport à (A), avec des valeurs comparables.

Comme dans le cas des produits de tricondensation de l'acide hydroxypyruvique, l'ion se décarboxyle plus vite que la forme non dissociée, pour laquelle on admettra le schéma classique de décarboxylation :



Remarque. — Au-dessus de pH 3,0, il est préférable de suivre la réaction par polarographie après dilution en milieu alcalin ; en effet, le pourcentage d'acide dihydroxyacrylique présent à l'équilibre décroissant rapidement avec le pH, il suffit d'une très faible quantité d'acide dihydroxyfumarique pour fausser les mesures.

B. **Action des dérivés du type R — NH — NH$_2$.** — a) *Action de la semicarbazide et de l'hydrazine.* — Par addition d'un excès de semicarbazide à une solution d'acides en C3, à pH $\leqslant 2$, il apparaît instantanément à 22° C, la vague cathodique de la semicarbazone de l'aldéhyde glycolique

$$\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH} = \text{NR} \quad (E_{1/2} = -0{,}95 \text{ V à } p\text{H } 2{,}0).$$

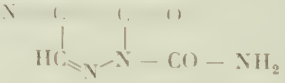
D'après la hauteur de la vague obtenue, la valeur de ε à 227 mμ ($\simeq 6\,500$), et la quantité de CO_2 dégagée, il y aurait sensiblement 70 p. 100 de semicarbazone. En attendant quelque temps on en obtiendrait 100 p. 100.

Si la même réaction est effectuée à 60° C, il apparaît une deuxième bande dans l'ultra-violet : ε = 4 000 à 290 mμ ; elle appartiendrait à une pyrazolone (48) qui précipite par refroidissement si le pH est < 2, tandis que la semicarbazone de l'aldéhyde glycolique demeure dans le filtrat.

La même pyrazolone est obtenue, avec un meilleur rendement ($\simeq$ 80 p. 100), après oxydation par l'iode, qui déplace l'équilibre dans le sens → :

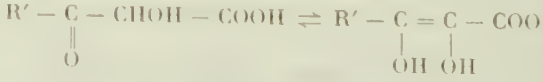
$$\text{CHO} - \text{CHOH} - \text{COOH} \rightleftarrows \text{HC(OH)} = \text{C(OH)} - \text{COOH} \rightarrow \text{HCO} - \text{CO} - \text{COOH}.$$

Enfin, on peut encore l'obtenir en faisant réagir à 22° C un excès de semicarbazide sur l'acide dihydroxyfumarique.



Calc. pour $C_5H_6O_3N_6$, H_2O p. 100 : C, 27,70 ; H, 3,70 ; N, 38,90. — Tr. : C, 27,53 ; H, 4,74 ; N, 39,10.

Le mécanisme qui permet d'obtenir une semicarbazone du type R'C(= NR) — C(= NR) — COOH à partir d'un mélange de tautomères



est actuellement étudié au laboratoire.

L'action de l'hydrazine est comparable : il apparaît deux bandes à 60° C : une première à 270 mμ (ε = 4 500) et une seconde, plus développée, à 235 mμ (ε = 5 600). Mais, contrairement au cas précédent, la pyrazolone obtenue est soluble et ne précipite que par l'alcool-éther ; elle est alors amorphe et très hygroscopique.

La formation de ces pyrazolones et le fait que, à aucun moment, CH_2OH — C(: NR) — COOH n'apparaît exclut que le tautomère en équilibre avec l'acide dihydroxyacrylique soit l'acide hydroxypyruvique,

La réaction avec la phénylhydrazine — qui aboutit à des osazones bien cristallisées — permet de conclure dans le même sens.

b) *Action de la phénylhydrazine.* — Il est admis (16) et (17), et nous l'avons vérifié, que l'acide hydroxypyruvique ne donne pas d'osazone. Au contraire, le semialdéhyde tartronique conduit à l'osazone du semialdéhyde mésoxalique (17) et (33).

$$CH(:N-NH-C_6H_5)-C(:N-NH-C_6H_5)-COOH.$$

Cette osazone a été préparée à partir du semialdéhyde mésoxalique, CHO — CO — COOH, obtenu par oxydation à l'iode de l'acide dihydroxyacrylique. Le point de fusion trouvé et l'analyse, après recristallisation dans le chloroforme acétique, confirment les travaux antérieurs.

Calc. p. 100 : C, 63,80 ; H, 4,92 ; N, 19,80. — Tr. : C, 63,62 ; H, 5,12 ; N, 19,92.

Mais cette osazone peut encore être caractérisée de deux façons :

1° Elle est soluble dans une solution de carbonate de sodium à l'ébullition, en formant un sel qui précipite par refroidissement (49).

2° Par chauffage à reflux dans l'alcool chlorhydrique à 5 p. 100 en HCl, elle se cyclise en pyrazolone (37 et 38) insoluble dans l'alcool, soluble dans l'éther éthylique.

Dans une solution d'acide dihydroxyfumarique décarboxylée modérément en milieu acide, à 40° C, sont susceptibles de réagir avec la phénylhydrazine : l'aldéhyde glycolique ($\simeq$ 10 p. 100) dont on ne peut exclure totalement la présence ; l'acide dihydroxyacrylique ($\simeq$ 20 p. 100) et le semialdéhyde tartronique. Si la réaction est réalisée à 80° C, ce dernier donne l'osazone du glyoxal par décarboxylation. Quant à l'acide dihydroxyacrylique, il est vraisemblable que, comme l'aldéhyde glycolique, il conduit à l'osazone du glyoxal ; en effet, après réaction à 40° C, on obtient un mélange qui, d'après l'analyse, correspond à des proportions sensiblement égales de HC(: NR) — CH(: NR) et de HC(: NR) — C(: NR) — COOH.

La séparation de ces deux osazones a été effectuée de deux manières :

1° Par le sel de sodium que seule peut donner l'osazone carboxylée : 250 ml de solution d'acide dihydroxyfumarique 0,05 M sont décarboxylés pendant 1 heure à 60° C, dans HCl $\frac{N}{20}$. La décarboxylation est suivie par polarographie. Quand le stade en C3 est atteint, ajouter, dans l'ordre, 5 ml d'acide acétique glacial et 4 ml de phénylhydrazine. Laisser réagir 1 heure à 60° C. Refroidir. Filtrer. Dissoudre le précipité dans 25 ml d'eau contenant 10 mmoles de Na_2CO_3, à l'ébullition. Le sel de sodium précipite par refroidissement, mélangé à l'osazone du glyoxal qui n'a pas réagi. Par lavages répétés à l'alcool, on entraîne l'osazone du glyoxal, beaucoup plus soluble que le sel de sodium. Laver très rapidement à l'eau glacée. Après plusieurs lavages à l'alcool, le sel se présente sous forme d'aiguilles soyeuses blanches à reflets roses. L'analyse l'identifie au sel de sodium préparé à partir de l'osazone du semialdéhyde mésoxalique.

Calc. pour $C_{15}H_{13}N_4O_2Na$ p. 100 : C, 59,10 ; H, 4,26 ; N, 18,45 ; Na, 7,50. — Tr. : C, 58,79 ; H, 4,23 ; N, 18,40 ; Na, 7,30.

2° Grâce à la pyrazolone, seule extractible à l'éther éthylique. Pour cycliser HC(: NR) — C(: NR) — COOH en pyrazolone, il suffit de porter 1 heure à 60° C la solution d'acides en C3, après addition d'acide acétique et de phénylhydrazine. Le mélange de pyrazolone et d'osazone du glyoxal obtenu est extrait à l'éther : l'évaporation de la solution éthérée donne les cristaux jaune-orangé de la pyrazolone déjà décrite (37) et (38). Cette pyrazolone possède un spectre ultra-violet caractéristique, qui la distingue aisément des osazones du mélange initial : $\varepsilon = 18\,000$ à 250 et 390 mμ.

Calc. pour $C_{15}H_{12}N_4O$, $2H_2O$ p. 100 : C, 60,00 ; H, 5,35 ; N, 18,65. — Tr. : C, 60,32 ; H, 5,82 ; N, 19,06.

V. — Conclusion

La décarboxylation de l'acide dihydroxyfumarique — ou de ses ions — au-dessous de *p*H 5 donne des résultats comparables à ceux fournis par l'acidification de l'hydroxypyruvate (111). Dans les deux cas, on pensait que le tautomère engendré serait α plutôt que β-cétonique, par suite de la conjugaison. En fait la vitesse de décarboxylation observée montre que le tautomère cétol obtenu est β-carbonylé : c'est le semialdéhyde tartronique, en équilibre avec sa forme ènediol tautomère, l'acide dihydroxyacrylique. Au contraire, le tautomère α-cétonique, l'acide hydroxypyruvique étudié dans la première partie de ce travail, n'est pas en équilibre avec l'acide dihydroxyacrylique. Il est donc comparable à l'aldéhyde hydroxypyruvique, qui n'est pas en équilibre avec son tautomère, la triose-réductone (21).

$$HCO-CHOH-COOH \rightleftarrows HC(OH)=C(OH)-COOH \not\rightleftarrows CH_2OH-CO-COOH$$
$$HC(OH)=C(OH)-CHO \not\rightleftarrows CH_2OH-CO-CHO.$$

Remarque

Après la publication de Notes exposant nos recherches (46), nous avons eu tout récemment connaissance d'un article sur la décarboxylation de l'acide dihydroxyfumarique (50). Ce travail appelle trois observations.

1° Les auteurs appliquent la méthode de Swain, relative aux réactions consécutives d'ordre 1 et utilisent

les abaques de Frost et Pearson, donnant les valeurs de $k = \frac{k_1}{k_2}$ en fonction des valeurs de $\log\left(\frac{t_{35}}{t_{15}}\right)$, $\log\left(\frac{t_{70}}{t_{35}}\right)$ et $\log\left(\frac{t_{70}}{t_{15}}\right)$. La réaction est suivie par une technique manométrique de mesure du CO_2. De ce fait, une *période d'induction* intervient au début de la réaction : en portant $\log\left(\frac{p_\infty}{2} - p_t\right)$ en fonction du temps — où p_∞ désigne la pression finale et p_t la pression au temps t, Hay et Harvie obtiennent une droite jusqu'à 70 p. 100 de la réaction, *à condition d'ignorer une portion de courbe initiale*. Ils trouvent que les valeurs de k_1 passent par un maximum vers pH 2,70. La décarboxylation du dérivé tricondensé de l'acide hydroxypyruvique (II) représente un cas semblable. Par contre, pour la réaction C4 $\xrightarrow{k_1}$ C3 + CO_2, nous n'avons pas observé de décroissance de k_1 au delà de pH 2,70. La question demeure ouverte de savoir quelle est l'origine de cette divergence. Peut-être tient-elle aux défauts de l'enregistrement manométrique, *les mesures spectrophotométriques ne manifestant aucune période d'induction.*

2° Les auteurs ne donnent aucune précision sur la nature chimique du stade en C3. Ils se contentent de renvoyer — incomplètement d'ailleurs — à la bibliographie.

3° En milieu alcalin, ils prétendent avoir étudié l'équilibre ceto $\overset{OH^-}{\rightleftharpoons}$ énol. En réalité ils obtiennent, dans les conditions où ils opèrent, le dérivé (II) de l'hydroxypyruvate et non l'oxaloglycolate :

$$NaOCO - CO - CHOH - COONa.$$

Pour s'en convaincre, il suffit de titrer acidimétriquement la solution évoluée n'absorbant plus : elle renferme une mole de carbonate par mole de dihydroxyfumarate initiale. Enfin, rappelons l'intérêt présenté par l'emploi de la polarographie pour suivre la réaction en milieu alcalin (pH > 12), puisqu'on peut doser simultanément C4, C3 et C2 à partir d'un seul polarogramme.

BIBLIOGRAPHIE

1. K. Wiesner. — *Chem. Listy*, 1944, **38**, 91.
2. E. Kodicek et K. Wenig. — *Nature*, 1938, **142**, 35.
3. F. Santavy et B. Bitter. — *C. C. C. C.*, 1950, **15**, 112.
4. G. Sartori et A. Liberti. — *Acad. Naz. dei lincei*, 1946, fasc. 1, sér. 8, 1.
5. V. Hladik. — *Dissertation*, 1948. Charles University, Prague.
6. R. Brdicka et P. Zuman. — *C. C. C. C.*, 1950, **15**, 766.
7. S. Ono, M. Takagi et T. Wasa. — *Bull. Chem. Soc. Japon*, 1958, **31**, 356.
8. J. Doskocil. — *C. C. C. C.*, 1950, **15**, 599.
9. H. Euler et B. Eistert. — *Chemie der reduktone und reduktonate*, 1957, F. Enke Verlag, Stuttgart.
10. A. Meister. — *J. Biol. Chem.*, 1952, **197**, 309.
11. F. Dickens et D. Williamson. — *Nature*, 1956, **178**, 1118.
12. B. Horecker, P. Smyrniotis et H. Klenow. — *J. Biol. Chem.*, 1953, **205**, 661.
13. F. Dickens et D. Williamson. — *Nature*, 1956, **178**, 1349.
14. H. J. Sallach. — *J. Biol. Chem.*, 1956, **223**, 1101.
15. C. E. Ballou et R. Hesse. — *J. A. C. S.*, 1956, **78**, 3718.
16. D. B. Sprinson et E. Chargaff. — *J. Biol. Chem.*, 1946, **164**, 417.
17. F. Dickens et D. Williamson. — *Biochem. J.*, 1958, **68**, 74.
18. S. Ono, M. Takagi et T. Wasa. — *C. C. C. C.*, 1961, **26**, 141.
19. J. Kuta. — *C. C. C. C.*, 1958, **21**, 697.
20. M. Fleury et P. Souchay. — *C. R.*, 1961, **252**, 1472.
    P. Souchay et M. Feury. — *C. R.*, 1965, **260**, 2827.
21. Hesse, Ramish et Remer. — *Chem. Ber.*, 1956, **89**, 2137.
    Eistert et Haupter. — *Chem. Ber.*, 1958, **91**, 703.
22. E. Waldmann, V. Prey et F. Jelinek. — *Monatshefte für chemie*, 1954, **85**, 872.
23. P. Souchay et R. Schaal. — *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1950, **17**, 819.
24. Hiroyuki Fukushima. — *Yakugaku Zasshi*, 1960, **80**, 78.
25. J. L. Hedrick et H. J. Sallach. — *J. Biol. Chem.*, 1961, **236**, 1867.
26. K. J. Pedersen. — *J. A. C. S.*, 1929, **51**, 2098.
27. R. Steinberger et F. Westheimer. — *J. A. C. S.*, 1951, **73**, 429.
28. E. Gelles. — *J. Chem. Soc.*, 1956, 4736.
29. J. E. Prue. — *J. Chem. Soc.*, 1952, 2331.
30. L. Knorr et B. Dettinger. — *Ann. Chem.*, 1894, **279**, 247.
31. D. S. Noyce, E. Ryder et B. Walker. — *J. Org. Chem.*, 1955, 1681.
32. G. Leandri, A. Mangini et F. Montanari. — *Gazz. Chim. Ital.*, 1955, **85**, 769.
33. Fischer, Baer et Nidecker. — *Helv. Chim. Acta*, 1937, **20**, 1226.
34. H. Ohle. — *Ber. Chem. Ges.*, 1934, **67**, 1750.
    E. L. Hirst et L. Zechmeister. — *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, Vienna, 1939, **2**, 132.
35. H. Von Euler et C. Martius. — *Ann. Chem.*, 1933, **505**, 73.
36. Fenton et Jones. — *J. Chem. Soc.*, 1900, **77**, 72.
37. Nastvogel. — *Ann.*, 1888, **248**, 85.
38. M. Dakin. — *The biochemical. J.*, 1917, **11**, p. 79.
39. L. Bellamy et R. Williams. — *Biochem. J.*, 1958, **68**, 81.
40. C. Neuberg et E. Scwenk. — *Biochem. J.*, 1915, **71**, 104.

41. A. Stepanow et A. Kusin. — *Ber. deutsch. Chem. Ges.*, 1930, **63**, 1147 ; 1934, **67**, 723.
42. S. Akabori, K. Uchara et I. Muramatsu. — *Proc. Japan. Acad.*, 1952, **28**, 39.
43. C. T. Chow et B. Vennesland. — *J. Biol. Chem.*, 1958, **233**, 997.
44. J. L. Hedrick et H. J. Sallach. — *J. Biol. Chem.*, 1961, **236**, 1867.
45. K. Fukunaga. — *J. Biochem.*, 1960, **47**, 741.
46. M. Fleury. — *C. R.*, 1961, **252**, 1951.
M. Feury. — *C. R.*, 1965, **260**, 5563.
47. Grossmann. — *Z. physikal. Chem.*, 1924, **109**, 305.
48. C. Prevost et M. Fleury. — *C. R.*, 1964, **258**, 5873.
49. H. J. Fenton et J. H. Ryffel. — *J. Chem. Soc.*, 1902, **81**, 426.
50. R. W. Hay et S. J. Harvie. — *Aust. J. Chem.*, 1965, **18**, 1197.

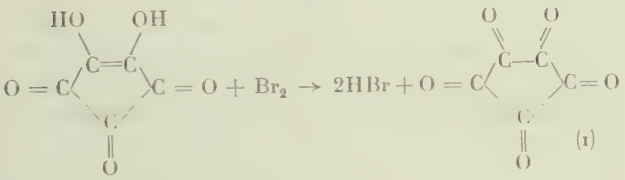
III. — DÉGRADATION ALCALINE DE L'ACIDE LEUCONIQUE

I. — Introduction

L'acide leuconique (cyclopentanepentone) a été préparé la première fois par Will, en 1861 (1), par oxydation nitrique de l'acide croconique. Cette préparation a été reprise lors des études ultérieures de Nietzki, Homolka et Eistert (2) et (3).

Pour préparer des solutions d'acide leuconique, l'oxydation de l'acide croconique par le permanganate en milieu sulfurique ou par l'hypochlorite en milieu acétique a dû être abandonnée, car elle n'est pas stœchiométrique, contrairement à l'oxydation par l'eau de brome qui a été retenue.

Un titrage ampérométrique, effectué en ajoutant des quantités croissantes d'eau de brome à une solution d'acide croconique à *p*H 1,5 confirme le caractère stœchiométrique de la réaction en milieu faiblement acide.



(1)

Finalement, le mode opératoire suivant a été retenu : la solution de brome utilisée est une solution dans le tétrachlorure de carbone, dont le titre varie beaucoup moins rapidement que celui d'une solution aqueuse, et qui évite l'introduction accidentelle d'excès de brome. Le croconate de potassium est dissous dans l'eau (0,1 M), puis sa solution est additionnée d'acide chlorhydrique, le titre final étant centinormal. Oxyder la solution par la quantité calculée de brome. L'excès de brome reste dans le tétrachlorure ; les dernières traces sont ôtées avec du benzène.

Le benzène et l'oxygène dissous sont chassés par un barbotage d'azote prolongé. La solution ainsi obtenue n'absorbe pratiquement pas dans l'ultra-violet ; à l'abri de l'air, elle peut être conservée pendant une semaine.

II. — Réduction de l'acide leuconique

L'acide leuconique étant obtenu par oxydation de l'acide croconique, nous avons cherché, réciproquement, à le réduire en acide croconique. Si la réaction est possible stœchiométriquement, on peut doser par réduction l'acide leuconique restant en solution.

Après divers essais infructueux (hydrogène en présence de noir de platine ou de palladium, zinc ou étain en milieu chlorhydrique), nous avons adopté l'action du sulfate d'hydrazine à l'ébullition, en milieu acide, ou de l'hydrazine base sans chauffage. Dans le premier cas, le comportement spectrophotométrique (ε 362 mμ = 10 500, ε 325 mμ = 12 500) et polarographique (— 0,36 et — 0,62 V à *p*H 1,55 : 4 $\mathcal{F}$) est identique à celui de l'acide croconique. Le produit obtenu précipite totalement par les ions Ba^{++}.

En opérant avec l'hydrazine base, le *p*H final étant de 8,6, il apparaît, à côté de la bande caractéristique du croconate, à 364 mμ, une bande moins importante, à 280 mμ, qui doit correspondre à la formation d'une hydrazone ; en effet, elle augmente aux dépens de la première quand on laisse vieillir, à la température ambiante, la solution :

Tableau VII

t	6 heures	68 heures	120 heures	10 jours
362 mμ	33 000	20 000	15 500	9 000
280 mμ	5 000	8 700	11 000	12 000

La réaction peut également être effectuée dans des mélanges tampons : il suffit de dissoudre au préalable le sulfate d'hydrazine (5×10^{-3} M) dans le tampon déterminé, en chauffant s'il y a lieu. La solution d'acide leuconique est ensuite introduite dans le tampon : au-dessous de *p*H 4,0 il faut chauffer pour que la réduction intervienne. Celle-ci devient rapide dès *p*H 5,0 ; il est inutile de chauffer à partir de *p*H 6,5.

III. — Alcalinisation d'une solution d'acide leuconique

Quand l'acide leuconique est introduit dans des solutions de *p*H croissant, la capacité à fournir du croconate ultérieurement, par réduction à l'hydrazine, décroît, tandis qu'apparaissent les manifestations d'une aci-réductone.

Si, après réduction par le sulfate d'hydrazine à *p*H 1, on alcalinise une solution d'acide leuconique, les manifestations de l'aci-réductone ne sont plus observées, puisque l'acide leuconique est réduit en acide croconique. Réciproquement, après formation de l'aci-réductone en tampon carbonate, on ne peut plus obtenir de croconate par réduction.

Lorsqu'une solution d'acide leuconique suffisamment concentrée ($C \geqslant 0{,}01$ M) est alcalinisée par une solution de carbonate de sodium 1 M, il apparaît instantanément un précipité blanc crème qui sera étudié au chapitre VI. Si au contraire la concentration finale est $\leqslant 0{,}01$ M, le précipité n'apparaît pas. Par contre, quand on verse l'acide leuconique dans la solution de carbonate, une intense coloration violette apparaît pendant quelques instants ; quand elle a disparu, la solution est jaune et présente les manifestations d'une aci-réductone déjà évoquées : vagues anodiques au polarographe et forte bande d'absorption dans l'ultra-violet. On observe également des vagues cathodiques d'intensité égale à celle des vagues anodiques. Ces trois phénomènes peuvent être attribués à un seul corps, leurs vitesses de disparition étant les mêmes, à l'abri de l'air :

TABLEAU VIII

t heure	Vague anodique $E_{1/2} = -0{,}35$ V	Vague cathodique $E_{1/2} = -1{,}70$ V	ε 325 mμ
0	100	100	100
2	83	81	75
4	55	50	45
6	35	38	38

Les hauteurs des vagues anodiques, rapportées à celles fournies par l'acide ascorbique dans les mêmes conditions, permettent d'évaluer à 50-60 p. 100 le pourcentage d'aci-réductone obtenu entre *p*H 9,5 et 10,5. Cette valeur est confirmée par un titrage à l'iode après acidification de la solution par l'acide acétique.

Effectivement, un sel de baryum insoluble peut être isolé en milieu acétique sans que se trouvent ni altérées ni diminuées les manifestations de l'aci-réductone : 25 ml d'acide leuconique 0,1 M sont introduits dans 100 ml de tampon carbonate 0,20 M préalablement désoxygéné. Acidifier vers *p*H 3,5 par l'acide acétique et chasser le CO_2 par un courant d'azote. Réalcaliniser à *p*H 4,40. Précipiter par le chlorure de baryum. Centrifuger.

Le précipité obtenu sera étudié dans le chapitre suivant (IV), tandis que l'analyse de la solution surnageante fera l'objet du chapitre V. Cette solution, qui renferme la quasi-totalité de l'aci-réductone, fournit elle-même un sel de baryum insoluble au-dessus de *p*H 8,0 Si la précipitation a été effectuée rigoureusement à l'abri de l'air, ce dernier redonne, après dissolution dans l'acide chlorhydrique dilué, les manifestations de l'aci-réductone.

IV. — Étude du sel de baryum précipité en tampon acétique

Le sel de baryum dissous dans l'acide chlorhydrique dilué, ne fournit aucun spectre ultra-violet notable, ni aucune vague polarographique. La solution obtenue, débarrassée des ions Ba^{++} par les ions SO_4^{--}, conserve cette inertie après alcalinisation.

L'absence de réactivité vis-à-vis de la semi-carbazide montre que la molécule ne renferme pas de carbonyle. D'autre part, si le titrage alcalimétrique montre l'existence d'une acidité de force moyenne ($pK \simeq 4{,}5$), la solution ne se décarboxyle pas en milieu acide, ce qui s'accorde avec l'absence de carbonyle (pas d'acide β-cétonique).

L'addition de la solution acide du sel de baryum à une solution de nitrate de bismuth dans le glycérol provoque une précipitation ; tandis que la solution acide donne la réaction de Berg et Uffelmann. Ces deux tests sont spécifiques des acides-alcools. La réaction de Moehler étant positive, il doit s'agir d'acide tartrique. Les résultats suivants le confirment.

1° Si une solution d'acide leuconique est alcalinisée par du carbonate de potassium, puis acidifiée vers *p*H 3,5 le tartrate acide de potassium cristallise lentement à condition que sa concentration soit supérieure à 0,02 M.

2° L'acide tartrique est caractérisé, sous forme d'émétique, par polarographie, suivant la méthode de Mathers, Beck et Schoneman (4) ; à *p*H 3,70, il fournit deux vagues spécifiques $E_{1/2} = -0{,}36$ V et $E_{1/2} = -0{,}97$ V de 2 $\mathcal{F}$ chacune.

3° Analyse du sel de baryum.

Calc. pour Ba(OCO—CHOH—CHOH—COO) p. 100 : C, 15,85 ; H, 1,98 ; Ba, 45,30. — Tr. : C, 16,29 ; H, 2,18 ; Ba, 45,60.

4° Dans les mêmes conditions ($pH \simeq 4{,}2$), on peut isoler un sel de calcium insoluble ; ce sel, repris par H_2SO_4 5 N, est oxydé par le permanganate de potassium à raison de 6 équivalents par mole. Cette réaction d'oxydation du sel de calcium s'est avérée un moyen commode de dosage de l'acide tartrique, en l'absence confirmée d'acide oxalique.

V. — Étude de la fraction soluble en milieu acétique

On retrouve les manifestations spectrophotométriques, potentiométriques et polarographiques de l'aci-réductone.

V_1. Comportement spectrophotométrique dans l'ultra-violet et étude potentiométrique. — La salification de deux acidités s'accompagne d'effets bathochromes très nets, puisqu'on observe trois bandes suivant la valeur du pH (fig. 16) :

$\varepsilon =$ 8 000 à 250 mμ à $p\text{H} \leqslant 3{,}0$
$\varepsilon =$ 10 000 à 275 mμ à $p\text{H} = 5{,}60$
$\varepsilon =$ 11 500 à 325 mμ à $p\text{H} \geqslant 10$

les absorptions étant rapportées à la quantité d'aci-réductone présente en solution, et non à l'acide leuconique initial.

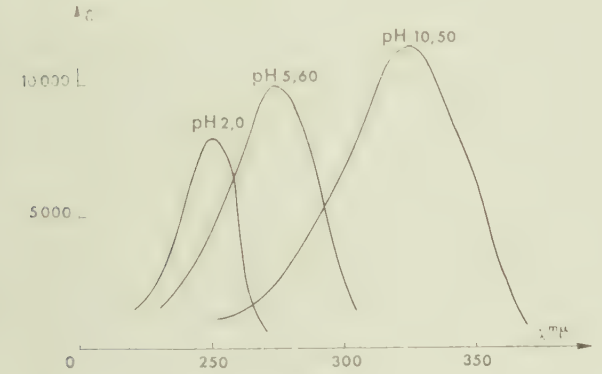


FIG. 16.

Les spectres des deux dernières formes définissent un point isobestique à 293 mμ, ce qui permet de déterminer le pK apparent de l'acidité correspondante : 8,65. Ce résultat est en accord avec la valeur trouvée par titrage potentiométrique effectué en atmosphère inerte, eu égard au pouvoir réducteur très élevé des formes ionisées ; deux acidités sont visibles : $p\text{K}_2 = 4{,}2$ et $p\text{K}_3 = 8{,}60$.

V_2. Comportement polarographique. — **Vagues anodiques.** — Malgré le caractère irréversible de l'oxydation polarographique des ènediols, leurs vagues anodiques correspondent à une pente thermodynamique, la variation de $E_{1/2}$ étant voisine de 0,06 V par unité pH. La figure 17 montre que cette nouvelle aci-réductone, à tout pH, est plus réductrice que l'acide ascorbique, la triose-réductone, ses formes ionisées étant même plus réductrices que le dihydroxyfumarate. La proportion d'aci-réductone obtenue entre pH 9,5 et 10,5 a été confirmée par électrolyse anodique à potentiel contrôlé (— 0,125 V à pH 10,5) : la quantité d'électricité nécessaire à l'oxydation correspond à 1,2e par mole d'acide leuconique initiale. Le produit d'oxydation est analogue à celui obtenu au cours de l'oxydation par l'iode en milieu acétique.

L'oxydation n'est accompagnée d'aucune décarboxylation. L'existence de l'éventuel acide tricétoglutarique qui en serait issu sera envisagée dans un travail ultérieur.

Vagues cathodiques. — Les valeurs de $E_{1/2}$ sont très voisines de celles obtenues pour les vagues de réduction de l'acide croconique (R) — ou de ses ions — en RH_2 (6). Par conséquent, il semble que la molécule étudiée renferme un groupement ènediol $\alpha\alpha'$ dicarbonylé :

$$— CO — C(OH) = C(OH) — CO —.$$

Au-dessus de pH 6,0, la hauteur de la vague cathodique est comparable à celle de la vague anodique. Au-dessous de pH 6,0, une vague moins négative apparaît aux dépens de la précédente (fig. 18). Le phénomène est analogue à une ionisation, la somme des deux vagues demeurant constante. Leurs hauteurs sont égales à $p\text{H} \sim 4{,}5$.

Si cette valeur de $p\text{K}'$ correspond à la deuxième ionisation de la molécule, le phénomène de recombinaison à l'électrode est négligeable, puisque la valeur trouvée par potentiométrie est $p\text{K} \simeq 4{,}2$.

En milieu plus acide ($p\text{H} \leqslant 3{,}0$), la hauteur de la vague de réduction diminue au point de devenir égale à la moitié de sa valeur précédente.

Cependant, des électrolyses cathodiques à potentiel contrôlé effectuées en milieu carbonate, acétate et chlorhydrique, montrent que le processus de réduction est toujours biélectronique puisque la quantité d'électricité nécessaire à la réduction totale de la molécule étudiée est toujours voisine de 1,2e par molécule d'acide leuconique initiale.

TABLEAU IX

V	Milieu	pH	Acide leuconique	Coulombs	e
— 1,75	Carbonate	9,70	2,5 mmoles	320	$\frac{320}{242} \simeq 1{,}30$
— 1,27	Acétate	5,60	»	280	1,16
— 0,75	Chlorhydrique	1,45	»	280	1,16

La nature du produit de réduction obtenu sera envisagée plus loin (voir paragraphe 7).

V_3. — Oxydation par l'iode. — **Influence sur le comportement polarographique et spectrophotométrique.** — Les vagues cathodiques et les bandes d'absorption ultraviolette décroissent simultanément et proportionnelle-

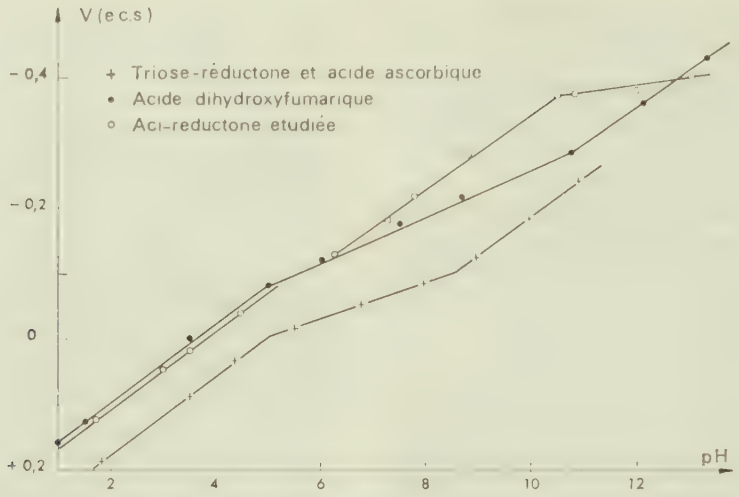


FIG. 17.

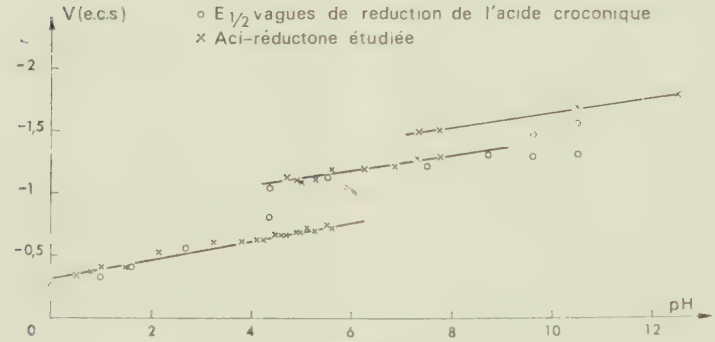


FIG. 18.

ment à la quantité d'iode introduite (*). Cependant, il apparaît au cours de l'oxydation une vague plus négative et de hauteur moitié moindre ; elle appartient au produit d'oxydation. Le tableau X rassemble ces variations au cours de l'oxydation en milieu acétique d'une solution initialement 0,02 M en acide leuconique. V final = 20 ml ; 100 p. 100 d'aci-réductone consommeraient 0,8 méquiv d'iode.

TABLEAU X

méquiv d'iode		0	0,1	0,2	0,3	0,4
Vagues cathodiques	— 0,67 V, $\mathcal{F}$:	1	0,7	0,4	0,15	0,0
	— 1,15 V, $\mathcal{F}$:	0,05		0,35	0,40	0,45
ε 270 mμ.		4 600				350

Les résultats obtenus sont équivalents si l'on a isolé au préalable le tartrate de baryum.

Oxydation par l'iode en excès. — Après 16 heures de contact, à la température ambiante, en présence d'un excès d'iode, 6 équiv d'iode sont consommés par mole d'aci-réductone ; il apparaît quantitativement 1 mole d'acide mésoxalique et 2 moles de CO_2. L'acide mésoxalique est dosé, soit par la vague de réduction du carbonyle en milieu alcalin, soit par sa semi-carbazone dont le comportement polarographique et spectrophotométrique est spécifique.

Par exemple, 20 ml de solution 0,02 M en acide leuconique, alcalinisée en tampon carbonate puis acidifiée par l'acide acétique, consomment 1,2 méquiv d'iode. Si le rendement en aci-réductone est de 50 p. 100, cela fait bien 1,2 méquiv d'iode pour 0,2 mmole d'aci-réductone, soit 6 équiv par mole. On dose effectivement 50 p. 100 de semicarbazone du type

$$HOCO - C(:NR) - COOH$$

tant par polarographie ($E_{1/2} = -0,75$ V ; 1 $\mathcal{F}$ à *p*H 3,60) que par spectrophotométrie ($\varepsilon = 6\,400$ à 275 mμ).

En milieu alcalin, on obtient une vague correspondant

(*) Il en est de même au cours des électrolyses anodiques ou cathodiques à potentiel contrôlé, ce qui confirme que spectre ultra-violet et vagues polarographiques sont la manifestation d'une même entité.

à 50 p. 100 de $^{-}OCO - CO - COO^{-}$: $E_{1/2} = -1{,}58$ V dans la soude $\frac{N}{5}$.

Si la réaction est effectuée dans un vase permettant un barbotage d'azote et surmonté d'un piège à boules contenant de la soude 4 N, on constate que 1 CO_2 par mole d'acide leuconique initiale s'est dégagé.

Ces résultats permettent d'attribuer à l'aci-réductone étudiée une formule en C5 contenant un groupement ènediol αα'-dicarbonylé.

V_4. **Analyse du sel de baryum.** — L'analyse du précipité obtenu en milieu alcalin, après séparation du tartrate en milieu acétique, correspond à un rapport $\frac{C}{Ba} = 3{,}35$. Puisque l'aci-réductone est en C5, trois acidités doivent être salifiées, dont les deux visibles sur la courbe de titrage, et une autre plus forte, non visible.

Calc. pour $^{-}OCO-CO-C(O^{-})=C(OH)-COO^{-}$, $\frac{3}{2}$ Ba, 2 H_2O p. 100 : C, 14,50 ; H, 1,21 ; Ba, 49,50. — Tr. : C, 14,35 ; H, 1,52 ; Ba, 49,0.

Étant donné le caractère exceptionnellement réducteur des ènediolates du type

$$- C(O^{-}) = C(OH) - COO^{-},$$

en milieu alcalin, la précipitation doit être réalisée rigoureusement à l'abri de l'air ; sinon, le produit d'oxydation engendré se décarboxylerait et la moindre trace de $BaCO_3$ fausserait considérablement les résultats de l'analyse.

Si le précipité est redissous dans HCl $\frac{N}{5}$, on peut, après élimination de Ba^{++} sous forme de sulfate insoluble et dilution au dixième de la solution obtenue (0,01 M) en tampon carbonate désoxygéné, enregistrer des spectres ultra-violets et des polarogrammes qualitativement identiques à ceux fournis par une solution d'acide leuconique ; la quantité d'aci-réductone obtenue est alors voisine de 100 p. 100. La formule

$$^{-}OCO - CO - C(O^{-}) = C(OH) - COO^{-}, \frac{3}{2}\,Ba$$

est confirmée par les expériences suivantes.

V_5. **Évolution en milieu alcalin.** — Une solution 0,05 M d'acide leuconique est alcalinisée en tampon carbonate, puis, l'énolisation étant effective, acidifiée par l'acide acétique. L'acide tartrique est éliminé sous forme de tartrate de baryum insoluble à *p*H 4,5.

L'excès d'ions Ba^{++} est à son tour éliminé par les ions $SO_4^{=}$. Enfin la solution est alcalinisée à *p*H 12. Toutes ces opérations doivent être effectuées rigoureusement à l'abri de l'air.

Il se peut qu'une faible quantité d'aci-réductone ait été précipitée en milieu acétique en même temps que le tartrate. Aussi les bilans sont-ils exprimés par rapport à la quantité d'aci-réductone restant réellement en solution, évaluée à partir de la vague anodique initiale ($E_{1/2} = -0{,}47$ V à *p*H 13).

La solution est alors portée à 60° C et son évolution est suivie par polarographie après dilution au vingtième dans la soude $\frac{N}{10}$. On constate que la vague anodique de $E_{1/2}$ égal à $-0{,}47$ V s'efface au profit d'une vague plus négative dont le $E_{1/2}$ correspond à celui de l'hydroxypyruvate tricondensé (III) au même *p*H. La présence d'hydroxypyruvate est confirmée par l'évolution du spectre, dont le maximum passe de 325 à 272 mμ.

La solution totalement évoluée précipite par les ions Ca^{++} après acidification par l'acide acétique. Un dosage manganimétrique, effectué sur le sel de calcium centrifugé et repris par l'acide sulfurique 5 N montre qu'il est apparu quantitativement une mole d'acide oxalique par mole d'aci-réductone.

En l'absence de tartrate, cette réaction de scission constitue une confirmation de la structure proposée pour l'aci-réductone. En ne tenant compte ni de l'ionisation ni de la tricondensation de l'hydroxypyruvate, elle peut être schématisée ainsi :

$$HOCO - CO - C(OH) = C(OH) - COOH + H_2O \rightarrow HOCO - COOH + HC(OH) = C(OH) - COOH$$

Si l'expérience est effectuée à température plus élevée, ou si le temps de contact à 60° C est maintenu au-delà de 30 minutes, l'hydroxypyruvate se décarboxyle et sa vague anodique n'a plus la hauteur théorique (1,33*e*). Mais, cependant, la quantité d'acide oxalique dosable par manganimétrie demeure invariable.

V_6. **Décarboxylation en milieu acide.** — Quand une solution 10^{-2} M d'acide dicéto-hydroxyglutarique (ènediol) est maintenue à *p*H 1 pendant 2 heures à 85° C, ou pendant 40 heures à 60° C, il apparaît quantitativement 2 moles de CO_2 et 1 mole de triose-réductone.

$$HOCO - CO - C(OH) = C(OH) - COOH \rightarrow 2\,CO_2 + H - CO - C(OH) = C(OH)H.$$

La triose-réductone a été caractérisée :

1° **Après dilution au dixième dans NaOH N/5 par ses vagues anodiques au polarographe.** — $E_{1/2} = -0{,}33$ et $-0{,}21$ V. Pour une hauteur totale correspondant à $2e^{-}$ la vague la plus négative est la plus importante : le rapport des deux vagues est voisin de 1,5. Étant donné qu'au cours de la décarboxylation, le rapport de ces deux vagues ne varie pratiquement pas, tandis que la vague de l'acide dicétohydroxyglutarique diminue proportionnellement à la quantité de CO_2 apparue, il ne semble pas que l'on puisse isoler de stade intermédiaire en C4 auquel correspondrait sûrement un $E_{1/2}$ spécifique.

Tableau XI

t^{mn}	0	90	180	∞
(1) — 0,47 V . .	4,2 µA	2,5 µA	1,3 µA	
(2) — 0,33 V (3) — 0,21 V . .	0	3,0 µA	5,7 µA	8,3 µA
CO_2 dégagé par mole d'acide leuconique initiale .		0,40	0,75	
$\Delta i^{\mu A}$		— 1,7 µA	— 2,9 µA	
Quantité de CO_2 correspondant à la disparition totale de la vague (1) .		1,0	1,10	

1,1 CO_2 par mole d'acide leuconique initiale correspond à 2 CO_2 par mole d'acide dicétohydroxyglutarique si la solution contient 55 p. 100 d'aci-réductone.

2° **Par ses spectres ultra-violets.** — Les spectres obtenus pour les trois formes de triose-réductone — non ionisée — mono-ionisée et bionisée — correspondent à ceux décrits par Euler et Eistert (7).

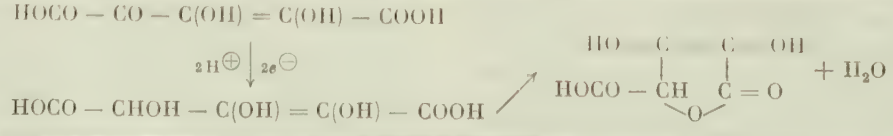
Tableau XII

	λ max
H — CO — C(OH) = CH(OH)	266 mµ : ε = 13 000
H — CO — C(OH) = CH(O^-)	290 mµ : ε = 19 000
H — CO — C(O^-) = CH(O^-)	314 mµ : ε = 19 000

3° **Par sa semicarbazone, après oxydation.** — Le dérivé déhydro obtenu après oxydation à l'iode donne une trisemicarbazone insoluble, qui a été analysée après 24 heures sous vide phosphorique.

Calc. pour $C_6H_{11}O_3N_9$, 1 H_2O p. 100 : C, 26,20 ; H, 4,73 ; N, 45,90. — Tr. : C, 26,06 ; H, 4,43 ; N, 46,05.

V_7. **Étude du produit préparé par réduction à potentiel contrôlé.** — Il était plausible, *a priori*, d'envisager la formation d'acide dihydroxycétoglutarique, qui a été obtenu par dégradation alcaline du triquinoyle (8) ; auquel cas la réduction s'écrirait simplement :



Une étude polarographique et spectrophotométrique montre que le produit obtenu n'est pas l'acide dihydroxycétoglutarique. De l'étude en cours, on retiendra les principaux points suivants :

1° La réduction électrolytique, sur cathode de mercure à potentiel contrôlé ($E_{1/2} = -1{,}50$ V à pH 8,50), est accompagnée d'une décarboxylation.

2° Le produit obtenu — en C4 — est constitué par un mélange en équilibre de deux tautomères cétol ⇌ ènediol, dans lequel prédomine la forme cétol (= 80 p. 100). L'oxydation par l'iode déplace l'équilibre.

3° Le produit en C4 engendre par alcalinisation au-dessus de pH 13, une aci-réductone exceptionnellement réductrice à l'électrode à goutte : $E_{1/2} = -0{,}56$ V à pH 13 : 1 $\mathcal{F}$.

4° A 60° C, en milieu acide, il est susceptible de perdre encore 1 CO_2. La réaction de la molécule en C3 avec les dérivés du type R — NH — NH_2 laisse présumer la présence de dihydroxyacétone.

En conclusion, en solution diluée ($C \leqslant 2 \times 10^{-2}$ M) l'ouverture du cycle de l'acide leuconique en tampon carbonate engendrerait 60 p. 100 d'aci-réductone NaOCO — CO — C(ONa) = C(OH) — CO_2Na et 40 p. 100 de tartrate de sodium, à la température ambiante.

Par contre, l'alcalinisation par le carbonate de sodium d'une solution suffisamment concentrée d'acide leuconique ($C \geqslant 2 \times 10^{-2}$ M) entraîne la formation d'un précipité dont il va maintenant être question.

VI. — Préparation d'un leuconate de sodium

VI_1. **L'expérience de Homolka** a été reprise. Si la concentration est comprise entre 10^{-2} et 2×10^{-2} M, en attendant suffisamment, le précipité finit par se redissoudre et l'analyse de la solution jaune obtenue montre que l'on est ramené au cas précédent. Les expériences qui vont être décrites concernent donc des solutions 0,1 M en acide leuconique, pour lesquelles la redissolution totale du sel de sodium serait très lente.

La solution d'acide leuconique 0,1 M est alcalinisée par une solution M en Na_2CO_3. Il se forme un abondant précipité crème, accompagné par l'apparition fugace de la coloration violette déjà décrite. Filtrer, essorer. Laver rapidement à l'eau froide. Lors du lavage, la coloration violette se développe quelquefois à nouveau pour s'estomper définitivement. Laver à l'alcool et à l'éther. Sécher 24 heures sous vide phosphorique. Le précipité analysé correspond à des rapports $\frac{C}{Na}$ variant à 4 à 4,5 tandis que sa solution correspond à des teneurs en acide leuconique allant de 80 à90 p. 100. Par exemple :

— par dissolution en tampon carbonate *p*H 10,0, on observe la coloration violette fugace précédent le virage au jaune ; il apparaît $\simeq$ 50 p. 100 d'aci-réductone,

— par réduction à l'hydrazine, la quantité d'acide croconique engendrée correspond grossièrement à 80 p. 100 de la quantité qui serait obtenue avec une solution d'acide leuconique dans les mêmes conditions.

Ces expériences laissent supposer que le sel de sodium préparé est constitué par un mélange d'un sel (A) de l'acide leuconique, donc toujours cyclisé, comme l'indique sa capacité à redonner du croconate, qui correspondrait à un rapport $\frac{C}{Na} = 5$, et d'un sel (B), produit d'ouverture dont le rapport $\frac{C}{Na}$ serait inférieur à 5.

Supposons par exemple que la réaction d'ouverture, précédemment décrite pour les solutions diluées, intervienne, et regardons si cette hypothèse est compatible avec les résultats acquis.

1° *Coloration violette.* — Puisqu'elle précède l'apparition de l'aci-réductone, elle semble correspondre à un stade intermédiaire entre le cycle cyclopentanepentone et les produits issus de son ouverture. Un phénomène semblable a été décrit au cours de l'alcalinisation modérée du dérivé réduit de la ninhydrine : l'hydrindantine (9 à 11). Comme cette coloration violette fugace est apparue au cours de la précipitation du leuconate de sodium, on peut se demander si B n'est pas l'aci-réductone NaOCO — CO — C(ONa) = C(OH) — CO_2Na.

2° Pour confirmer cette hypothèse, il fallait tout d'abord s'assurer de l'insolubilité du sel de sodium envisagé. Cette insolubilité paraît d'ailleurs très vraisemblable, étant donné celle du dihydroxyfumarate de sodium.

Pour cela, une solution 0,05 M de

$$HOCO - CO - C(OH) = C(OH) - COOH$$

a été préparée en milieu HCl $\frac{N}{5}$ à partir du sel de baryum. Les ions baryum ayant été éliminés, on alcalinise la solution en y dissolvant des cristaux d'acétate, de phosphate bisodique ou de carbonate neutre de sodium. Dans ce dernier cas seulement, on observe l'apparition d'un précipité.

Cette expérience permet de conclure que si

$$NaOCO - CO - C(OH) = C(OH) - CO_2Na$$

est soluble,

$$NaOCO - CO - C(ONa) = C(OH) - CO_2Na$$

ne l'est pas. Il faut salifier l'OH énediolique (pK = 8,6) pour obtenir la précipitation.

3° Reste à prouver que B est réellement le sel de sodium de l'énediol de l'acide dicétohydroxyglutarique. Pour cela, un sel de sodium, correspondant à un rapport $\frac{C}{Na} = 3{,}9$ a été mis en solution (2×10^{-3} M) en tampon acétique.

Le spectre ultra-violet présente deux bandes :

$$\varepsilon = 1\,150 \text{ à } 362 \text{ m}\mu$$
$$\varepsilon = 1\,075 \text{ à } 275 \text{ m}\mu$$

le polarogramme cathodique manifeste deux vagues :

$$E_{1/2} = -0{,}53 \text{ V} : 0{,}2\,\mathcal{F}$$
$$E_{1/2} = -0{,}90 \text{ V} : 0{,}2\,\mathcal{F}$$

la bande à 362 mμ et la vague la plus négative s'accordent avec la présence de 5 p. 100 de croconate provenant d'une réaction de dismutation de l'acide leuconique ; elle sera traitée au chapitre VII.

La bande à 275 mμ et la vague de $E_{1/2} = -0{,}53$ V correspondraient à 15 p. 100 d'acide dicétohydroxyglutarique. Regardons si ce résultat est compatible avec celui de l'analyse $\frac{Na}{C} = 0{,}256$.

Si le sel était constitué par 100 p. 100 de A, on aurait $\frac{Na}{C} = 0{,}2$ alors que s'il était constitué par 100 p. 100 de B, on aurait $\frac{Na}{C} = \frac{3}{5} = 0{,}6$; désignant par x la fraction de B et par $(1 - x)$ celle de A :

$$(1 - x)\,0{,}2 + x\,0{,}6 = 0{,}256$$

d'où :

$$x = 0{,}14$$

le sel de sodium précipité serait constitué par un mélange de 86 p. 100 de A et de 14 p. 100 de B :

$$NaOCO - CO - C(ONa) = C(OH) - COONa.$$

A se comportant comme l'acide leuconique lui-même, l'hypothèse la plus simple consiste à envisager la fixation de Na sur un — OH d'hydrate de carbonyle, dont le pK va être déterminé par potentiométrie.

VI$_2$. Titrages directs par la soude de solutions d'acide leuconique. — 1° **Solutions diluées.** — Une solution 0,02 M en acide leuconique et 0,1 M en chlorure de sodium est titrée par la soude $\frac{N}{10}$ dans un vase permettant d'opérer à l'abri de l'air. En travaillant rapidement (fig. 19, courbe ①) on observe une zone tamponnée, correspondant à une acidité de pK 7,65. Cette acidité doit être le fait d'un — OH d'hydrate de carbonyle appartenant à la molécule d'acide leuconique.

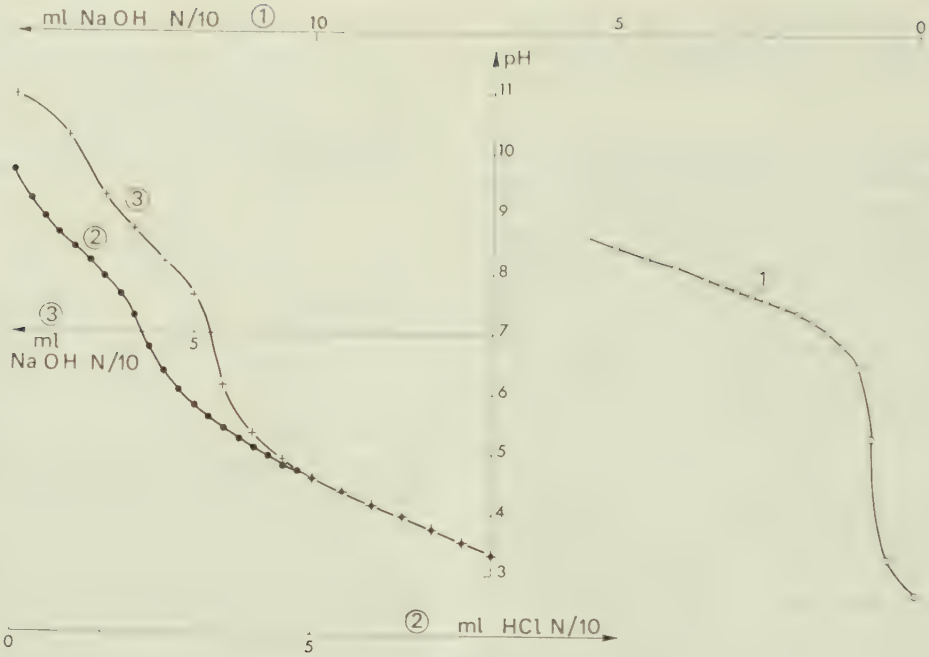


FIG. 19.

A partir de *p*H 7,50, en attendant après chaque addition de soude, le *p*H diminue spontanément. Toute mesure cesse d'être possible au-delà de 1 équiv OH^-, le *p*H subissant alors des variations considérables, dans le sens décroissant. Il redevient stable vers *p*H 11 quand sensiblement 3 équiv OH^- ont été introduits.

Le titrage en retour ② par l'acide chlorhydrique $\frac{N}{10}$ montre une succession de zones tamponnées situées vers *p*H 8,60, 6,40 et 4,60, correspondant respectivement à 0,5, 0,25 et 2 acidités, exprimées par rapport à l'acide leuconique initial.

L'acidité de $pK = 6{,}40$ appartient à HCO_3^-, comme le montre un nouveau titrage en retour ③, par la soude $\frac{N}{10}$, effectué sur la solution acidifiée et dégazée par un fort courant d'azote. Dans ces conditions, l'acidité de $pK = 6{,}40$ n'est plus visible.

Le décalage entre les courbes de titrage ① et ③ correspond à 2,2 acidités.

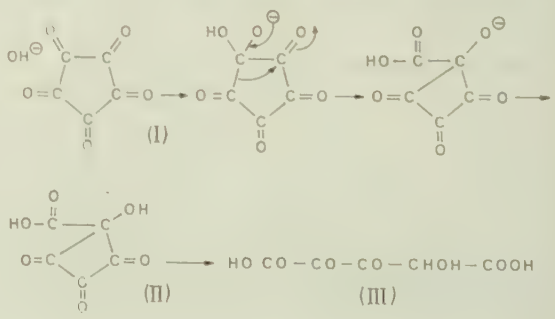
Ces faits s'accordent avec les hypothèses précédemment avancées. L'alcalinisation ménagée ($pH < 11$) d'une solution d'acide leuconique 0,02 M fait apparaître $\simeq 2$ acidités carboxyliques, 0,5 acidité ènediolique de *p*K 8,60, appartenant à 50 p. 100 de

$$^-OCO - CO - C(O^-) = C(OH) - COO^-;$$

le CO_2 apparu provient de la réaction concurrente génératrice d'acide tartrique ; il est toutefois en quantité inférieure à celle qui correspondrait à 50 p. 100 d'acide tartrique.

D'autre part, l'écart entre les deux courbes est de 2,2 équiv et non de 2, comme on pouvait s'y attendre. Ceci serait dû à une troisième réaction, spécifique des milieux alcalins, qui interviendrait localement lors des additions de soude $\frac{N}{10}$. D'ailleurs, si l'alcalinisation avait été poussée jusqu'à *p*H 12,50, on constaterait, sur un titrage en retour, que la quantité d'aci-réductone apparue n'est plus que de 25 p. 100 ; tandis que 2,8 équiv. OH^- sont consommés par mole d'acide leuconique. Un nouveau mécanisme de dégradation semble intervenir, dont l'étude a été réservée pour un travail ultérieur.

Ces considérations permettent d'envisager, pour le mécanisme d'ouverture du cycle de l'acide leuconique, une transposition benzilique, soit, en négligeant de représenter l'hydratation des carbonyles :



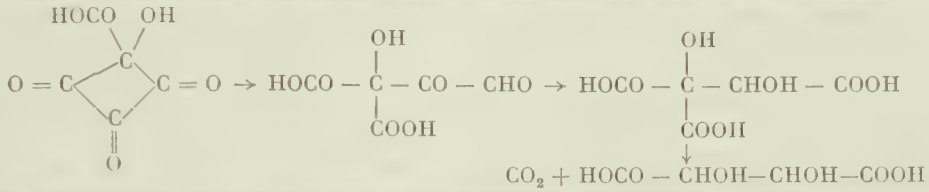
(II) subirait une coupure hydrolytique en acide dicéto-2,3 hydroxy-4 glutarique (III), qui s'énoliserait. A l'origine de l'acide tartrique, on peut envisager deux processus :

a) (III) *subirait une seconde coupure hydrolytique* :

$$HOCO - CHOH - CO - CO - COOH + H_2O \rightarrow HOCO - CHOH - CHOH - COOH + CO_2.$$

Dans ce cas, si l'énolisation protège (III) d'une décarboxylation ultérieure, pourquoi n'obtient-on pas 100 p. 100 d'ènediol ? En effet, une électrolyse sur anode de mercure à — 0,125 V, en tampon carbonate *p*H 10,50, montre qu'il n'existe pas d'équilibre cétol $\rightleftarrows$ ènediolate à ce *p*H : la quantité d'électricité passée, calculée par spectrophotométrie (décroissance de ε 325 mμ), correspond à 63 p. 100 d'aci-réductone.

b) (II) *engendrerait un alcool tertiaire, instable*, qui se décarboxylerait en acide tartrique, et ne pourrait être en équilibre avec l'aci-réductone :



Il faut enfin remarquer que si (II) se décarboxylait sans ouverture du cycle, on obtiendrait la forme cétol tautomère de l' « acide carré « (12) et (13). L'évolution en milieu alcalin en oxalate et hydroxypyruvate infirme cette hypothèse.

2° Soit maintenant le cas d'une solution d'acide leuconique plus concentrée, 0,1 M, c'est-à-dire dans les conditions de précipitation du leuconate de sodium. En prenant soin de ne pas pousser l'alcalinisation au-delà de *p*H 8,5 et en refroidissant à 0° C, le titrage en retour est pratiquement confondu avec le titrage aller. La précipitation intervient dès *p*H 6,80. Le léger décalage entre les deux courbes de titrage est dû à une dissolution partielle du leuconate, suivie d'une ouverture du cycle et donc d'une acidification. Un dosage polarographique et spectrophotométrique en fin de titrage en retour confirme l'apparition de 5 p. 100 d'ènediol. Les produits totaux de dégradation représentent par conséquent $\simeq$ 10 p. 100 de l'acide leuconique initial.

Ces résultats permettent de préciser dans quelles conditions il est souhaitable de préparer le sel de sodium. Au-dessus de *p*H 7,20, la réaction d'ouverture ne sera plus négligeable. Par contre, l'acide dicétohydroxyglutarique ne sera insolubilisé que dans la mesure où son acidité ènediolique sera salifiée (*p*K = 8,6). De toute manière, il ne semble pas que l'on ait intérêt à dépasser *p*H 7,50. C'est ainsi qu'a été mise au point la préparation suivante.

VI$_3$. Préparation du leuconate de sodium. — 50 ml d'une solution d'acide leuconique 0,1 M et 0,01 N en acide chlorhydrique sont additionnés, sous vive agitation et en atmosphère inerte, de 8 ml d'une solution sursaturée de phosphate disodique M. Le *p*H final de la solution est de 7,0. La précipitation est immédiate. Filtrer. Laver le précipité recueilli avec 100 ml d'une solution d'acide acétique au 1/500, puis à l'alcool éthylique. Sécher sous vide phosphorique pendant 24 heures. Le filtrat, légèrement coloré en jaune, contient, $\simeq$ 2 p. 100 de

$$^-OCO - CO - C(OH) = C(OH) - COO^-.$$

A aucun moment ne s'est développé de coloration violette.

VI$_4$. Étude du leuconate de sodium. — **Analyse.** — Les valeurs obtenues : p. 100 : C, 23,40 ; H, 4,08 ; Na, 9,30 s'accordent avec la formule brute : $C_5H_9O_{10}Na$ p. 100 : C, 23,80 ; H, 3,58 ; Na, 9,25.

Titrage acidimétrique. — 2 mmoles de sel de sodium ont été mises en suspension dans 25 ml de solution $\frac{M}{5}$ en NaCl et titrées par HCl $\frac{N}{5}$. Le point de demi-neutralisation confirme la valeur du *p*K trouvé lors du titrage par la soude $\frac{N}{5}$ d'une solution d'acide leuconique 0,02 M :

$$pK = 7,6.$$

Alcalinisation. — Si le leuconate est mis en solution (2×10^{-3} M) dans un tampon carbonate *p*H 9,8, il fournit, comme l'acide leuconique, 60 p. 100 de :

$$NaOCO - CO - C(ONa) = C(OH) - CO_2Na$$

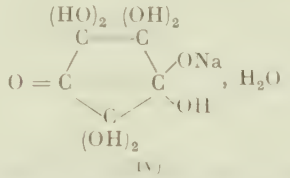
et 40 p. 100 de tartrate.

Réactivité vis-à-vis de l'hydrazine. — Si le leuconate est dissous dans une solution $H_2SO_4 = \frac{N}{10}$ et 0,1 M en sulfate d'hydrazine et maintenu pendant 5 minutes à 95° C, il apparaît une bande à 324 mμ : $\varepsilon = 9\,200$ (une solution d'acide leuconique donnerait $\varepsilon = 9\,400$).

Par ces deux réactions, le leuconate est identique à

l'acide leuconique. La salification ne peut donc affecter un produit de dégradation, mais seulement un — OH carbonylique.

Étude infra-rouge. — Le spectre effectué sur le leuconate de sodium en suspension dans le nujol montre, à côté d'un important « massif » dû aux — OH une bande à 1 787 cm^{-1} qui pourrait appartenir à un carbonyle déshydraté, et une autre bande à 1 630 cm^{-1} que l'on peut attribuer à de l'eau d'hydratation.



(IV)

Chez le croconate de potassium, la bande du carbonyle se manifeste à 1 740 cm^{-1}. Il semble que l'hydratation des quatre carbonyles du leuconate exerce une influence puisque la bande du C = O est déplacée à 1 787 cm^{-1}. Cette observation n'est pas surprenante puisque West (14) a montré par une étude infra-rouge — et confirmé aux rayons X — l'existence de carbonyles libres non coordinés, chez les complexes formés par l'acide croconique et les métaux de transition, absorbant entre 1 740 et 1 800 cm^{-1}.

Selon certains auteurs, tous les carbonyles seraient hydratés chez l'acide leuconique et le triquinoyle à l'état solide (15) et (16). Par contre, en solution aqueuse, l'acide leuconique posséderait un carbonyle déshydraté, puisqu'il réagit instantanément sur une solution de semicarbazide à *p*H 3 pour former une semicarbazone aisément réductible à l'électrode à goutte ($E_{1/2} = -0{,}56$ V).

VII. — Modifications apportées à la réaction d'ouverture par chauffage à 70° et 90° C

Il était intéressant de chercher à modifier les proportions d'ènediolate et de tartrate obtenues au cours de l'alcalinisation d'une solution d'acide leuconique. Ce faisant, une nouvelle réaction a été mise en évidence. Il s'agit d'une dismutation.

La présence d'une faible quantité de croconate a déjà été signalée lors de la dissolution du leuconate de sodium en tampon acétique. L'importance de cette réaction de dismutation est augmentée par le chauffage qui intervient également en transformant l'acide dicétohydroxyglutarique (ènediolate) suivant les deux processus signalés au chapitre V :

1° décarboxylation en triose-réductone au-dessous de *p*H 8,0,

2° coupure hydrolytique en oxalate et dérivé tricondensé de l'hydroxypyruvate au-dessus de *p*H 8,0.

VII_1. **pH < 8,0.** — 5 ml d'une solution d'acide leuconique 0,1 M sont introduits dans 45 ml de tampon acétate *p*H *4,50* préalablement désoxygéné et porté à 90° C. L'apparition de croconate peut être suivie par spectrophotométrie ultra-violette ou par polarographie, après dilution au dixième dans le tampon considéré.

L'état final est atteint au bout de 4 minutes à 90° C. On dose 12,5 p. 100 de croconate.

Si maintenant la dilution est effectuée dans la semicarbazide *p*H 3,50, on enregistre, après les deux vagues de croconate ($E_{1/2} = -0{,}52$ et $-0{,}80$ V) une troisième vague de $E_{1/2} = -0{,}95$ V. Le spectre d'absorption ultra-violette confirme qu'il s'agit de semicarbazone de l'aldéhyde glycolique ($\varepsilon = 1\,400$ à 225 mμ). Il y en aurait également 12,5 p. 100 ce qui permet d'envisager pour la réaction de dismutation le schéma ci-dessous (*).

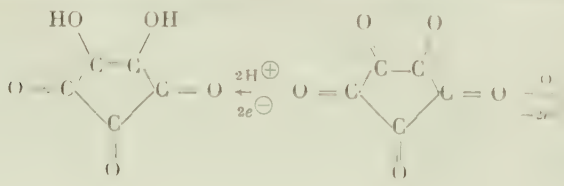
(v) subirait une transposition benzilique aboutissant à (vi), acide oxaloglycolique, dont le terme ultime de décarboxylation est l'aldéhyde glycolique. Ce schéma étant une hypothèse, ne signifie pas que les termes (v) et (vi) aient une existence réelle ; il montre seulement qu'il n'est pas étonnant que l'aldéhyde glycolique constitue le stade ultime de décarboxylation des produits d'oxydation.

D'autre part, la solution précipite abondamment par Ba^{++} ou Ca^{++} après séparation du croconate de baryum à *p*H ⩽ 2,0. D'après l'analyse, il s'agit de tartrate de baryum :

Calc. pour $C_4H_4O_6Ba$ p. 100 : C, 15,80 ; H, 1,98 ; Ba, 45,40. — Tr. : C, 15,95 ; H, 2,45 ; Ba, 45,50.

Le dosage manganimétrique, effectué sur le sel de calcium insoluble, repris par H_2SO_4 5 N, montre une consommation de 2 méquiv $KMnO_4$, correspondant à $\frac{2}{6} = 0{,}33$ mmole acide tartrique, soit 66 p. 100 de l'acide leuconique initial.

(*)



$$HOCO - CO - CO - CO - COOH \quad (v)$$

$$\downarrow$$

$$CO_2 + HOCO - CHOH - CO - COOH \quad (vi)$$

$$\downarrow$$

$$2\,CO_2 + CH_2OH - CHO$$

Enfin, il apparaît une bande à 270 mμ, de $\varepsilon = 800$. La valeur du $E_{1/2}$ de la vague anodique correspondante (— 0,17 V à *p*H 10,50) confirme qu'il s'agit de 5 p. 100 de triose-réductone.

Finalement le bilan s'établit ainsi :

TABLEAU XIII

Croconate	12,5 p. 100
Aldéhyde glycolique	12,5 p. 100
Triose réductone	5 p. 100
Acide tartrique	66 p. 100
	96 p. 100

Tampons acétiques *p*H *5,30.* — Le pourcentage de triose-réductone a légèrement crû. L'équilibre est atteint en 2 minutes à 90° C, à *p*H 5,30. Le bilan s'établit ainsi :

TABLEAU XIV

*p*H	5,30
Croconate	10 p. 100
Aldéhyde glycolique	10 »
Triose-réductone	14 »
Acide tartrique	64 »
	98 p. 100

Tampons phosphates *p*H *6,3 et 7,3.* — L'équilibre est atteint en 2 minutes à 90° C :

TABLEAU XV

Croconate	10 p. 100	0 CO_2
Aldéhyde glycolique	10 »	0,3 »
Triose-réductone	20 »	0,4 »
Acide tartrique	60 »	0,6 »
	100 p. 100	1,3 CO_2

La solution de *p*H 7,30 est suffisamment alcaline pour retenir la majorité du CO_2 apparu sous forme de HCO_3^-. Après acidification à *p*H 2,0 et entraînement par l'azote dans un piège à boules contenant de la soude 4 N, on dose $\simeq 1$ CO_2 par mole d'acide leuconique initiale, alors que d'après un bilan rigoureux, il aurait dû s'en former 1,3.

Si la réaction est effectuée en tampon monochloracétate *p*H 2,8, on dose d'une manière analogue 17,5 p. 100 de croconate et une quantité équivalente d'aldéhyde glycolique sous forme de semicarbazone. La réaction de dismutation représente donc 35 p. 100. Comme d'autre part toute trace de triose-réductone a disparu, la réaction génératrice d'acide tartrique doit concerner les 65 autres p. 100. Un titrage manganimétrique effectué sur le sel de calcium le confirme.

Enfin, 5 ml d'une solution d'acide leuconique 0,1 M sont introduits dans 45 ml d'acide chlorhydrique $\frac{N}{100}$, préalablement dégazé et porté à 90° C. L'apparition du croconate peut être suivie après dilution au dixième en tampon acétate *p*H 3,60 ; la croissance de ε 364 mμ en fonction du temps est représentée dans le tableau XVI.

TABLEAU XVI

t_{mm}	10	20	30	40	60	80	120	∞
364 mμ	600	1 160	2 250	2 900	5 900	7 800	8 600	9 800

L'absorption finale correspond à 27 p. 100 de croconate. L'analyse polarographique donne 30 p. 100.

Ainsi plus le *p*H diminue, plus la réaction de dismutation est importante. Par contre, il devient impossible de dresser un bilan, car, à 90° C, en solution acide, l'aldéhyde glycolique se polymérise et devient non réactif vis-à-vis de la semicarbazide.

VII$_2$. **Tampon carbonate.** — Le bilan établi pour une solution maintenue 2 minutes à *p*H 9,20, en tampon carbonate, est nettement différent de celui établi à *p*H 7,30 : seule est inchangée la quantité de croconate : 10 p. 100. Par contre, l'aldéhyde glycolique se trouve en proportion bien plus élevée (50 p. 100) et la triose-réductone a disparu. Une nouvelle réaction a dû engendrer l'aldéhyde glycolique. Cependant, la quantité d'ènediolate de l'acide dicétohydroxyglutarique est voisine de 16 p. 100 (contre 60 p. 100 à température ordinaire).

Il a déjà été précisé que les solutions d'acide dicétohydroxyglutarique chauffées subissaient deux réactions de dégradation : décarboxylation en milieu acide et coupure en oxalate et hydroxypyruvate en milieu alcalin. Puisqu'il n'apparaît plus de triose réductone, il semble qu'intervienne la seconde réaction. Dans cette hypothèse, il serait apparu :

$100 - [(10 \times 2) + 16] = 64$ p. 100 d'hydroxypyruvate

qui à 90° C se serait décarboxylé.

Cette hypothèse est confirmée par :

— la quantité de $CH_2OH - CHO$: 50 p. 100,

— le dosage de l'oxalate, effectué sur le sel de calcium insoluble précipité en milieu acétique : 70 p. 100, au lieu des 64 p. 100 théoriques,

— si la réaction est effectuée à 70° C, la proportion d'acide dicétohydroxyglutarique (ènediol) est plus importante.

TABLEAU XVII

	90° C	70° C
Croconate	10 p. 100	10 p. 100
HOCO–CO–C(OH)=C(OH)–COOH	16 »	35 »
Aldéhyde glycolique	50 »	20 »
Hydroxypyruvate tricondensé	0 »	25 »
Oxalate	70 »	50 »

Ainsi, à 70° C, la réaction de dismutation concerne 20 p. 100 du produit initial. Sur les 80 p. 100 restants, 35 sont constitués par l'aci-réductone en C5 et le reste (45) par l'hydroxypyruvate, dont 25 p. 100 seulement sont visibles. Les 20 autres p. 100 se sont décarboxylés. Effectivement, on trouve 20 p. 100 de :

$$-\mathrm{CHOH}-\mathrm{CH}=\mathrm{NR}$$

dosés au polarographe. Puisque la quantité d'oxalate dosée (50 p. 100) est supérieure à celle attendue (45 p. 100), il n'est pas exclu que des traces de tartrate interfèrent.

Donc, par chauffage à 70° C, à *p*H 9,20, la réaction génératrice d'acide tartrique est devenue négligeable. Seules subsistent :

— la réaction de dismutation ($\simeq$ 20 p. 100),

— la réaction génératrice d'ènediol (80 p. 100), lequel se scinde du fait du chauffage.

Remarque. — Il semble que les deux réactions de scission de l'aci-réductone en C5 concernent respectivement l'ènediol et l'ènediolate, puisque l'on passe apparemment de l'une à l'autre de part et d'autre du *p*K de l'acidité ènediolique (8,6).

Tampon carbonate *p*H 10,12. — A la température ambiante, il apparaît 60 p. 100 d'aci-réductone en C5 et 40 p. 100 de tartrate. Après chauffage à 70° C (1 minute) le bilan s'établit ainsi :

TABLEAU XVIII

Croconate	5 p. 100
$-\mathrm{CHOH}-\mathrm{CH}=\mathrm{NR}$	10 »
Ènediol en C5	45 »
Hydroxypyruvate	30 »

Sur les 10 p. 100 de $-\mathrm{CHOH}-\mathrm{CH}=\mathrm{NR}$, 5 p. 100 proviennent de la réaction de dismutation et 5 p. 100 doivent être attribués au terme de décarboxylation de l'hydroxypyruvate qui, selon Dickens et Williamson, est un tétrose (17). Par conséquent 10 p. 100 d'hydroxypyruvate se seraient dégradés.

Finalement, le bilan corrigé s'établirait ainsi :

TABLEAU XIX

Croconate	5 p. 100	
Aldéhyde glycolique	5 »	
Aci-réductone C5	45 »	
Hydroxypyruvate	40 »	(dont 10 p. 100 → tétrose)

Une confirmation est apportée par le dosage de l'oxalate présent dans la solution : 40 p. 100, soit la même proportion que l'hydroxypyruvate.

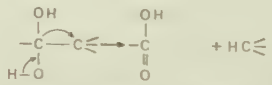
VIII. — Conclusion

En définitive, deux réactions interviennent essentiellement dans la dégradation de l'acide leuconique.

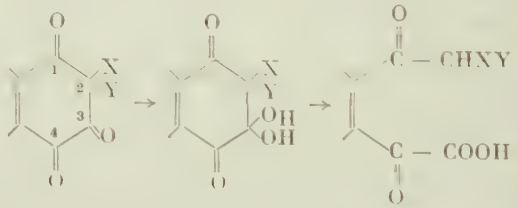
1° En milieu acide, à 90° C, une dismutation.

2° Au-dessus de *p*H 7,5 à température ambiante, une coupure hydrolytique.

Ces deux réactions se retrouvent avec le triquinoyle (8). En ce qui concerne le schéma réactionnel proposé pour la réaction de coupure hydrolytique, il peut être inséré dans le cadre général de l'étude des coupures hydrolytiques effectuée par Shemyakin et Shchukina. Ces auteurs ont montré (18) que de nombreuses tricétones, particulièrement celles de la série tétraline, sont rapidement hydratées sur la double liaison du carbonyle 3.



La présence de deux hydroxyles facilement ionisables en position 3 polarise hautement la liaison entre les C(2) et (3), si bien que la coupure du cycle est très aisée entre ces deux carbones.



La coupure est encore plus facile avec la tétracétone (XY = O). Dans ce cas, l'hydratation du carbonyle en position (2) ou (3) cause une très forte polarisation de la liaison C(2)-C(3) imputable à la présence de deux groupes carbonyle en position 3 : 4 ou 1 : 2 (19). Aussi la tétra-cétone se coupe-t-elle instantanément au-dessus de *p*H 7 à la température ambiante.

Les mêmes auteurs ont prévu un comportement analogue pour le triquinoyle.

BIBLIOGRAPHIE

1. H. Will. — *Ann.*, 1861, **118**, 177.
2. R. Nietzki. — *Ber.*, 1887, **20**, 1617.
3. B. Homolka. — *Ber.*, 1922, **55**, 1310.
4. A. P. Mathers, J. E. Beck et R. L. Shoneman. — *Analytical chemistry*, 1951, **23**, 1167.
5. R. Brdicka et P. Zuman. — *C. C. C. C.*, 1950, **15**, 766.
6. Arcamone, C. Prevost et P. Souchay. — *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1957, **20**, 1953.
   M. Fleury. — *C. R.*, 1964, **258**, 1512.
7. H. V. Euler et B. Eistert. — *Reduktone und Reduktonate*, F. Enke Verlag, Stuttgart, p. 61.
8. D. Fleury et M. Fleury. — *C. R.*, 1964, **258**, 5221.
9. McCaldin. — *Chem. Reviews*, 1954, **60**, 39.
10. S. J. Ruhemann. — *Chem. Soc.*, 1911, **99**, 792.
11. D. A. MacFayden et N. J. Fowler. — *Biol. Chem.*, 1950, **186**, 13.
12. S. Cohen, J. R. Lacher et J. D. Park. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 3480.
13. R. West, Hsien Ying Niu et Mitsuo Ito. — *J. A. C. S.*, 1963, **85**, 2584.
14. M. Ito et R. West. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 2580.
15. W. Person et D. G. Williams. — *J. Phys. Chem.*, 1957, **61**, 1017.
16. A. J. Fatiadi, H. S. Isbell et W. Sager. — *J. of research of the Nat. Bur. Stand.*, 1963, **67 A**, 153.
17. F. Dickens et D. Williamson. — *Biochem. J.*, 1958, **68**, 74.
18. M. P. Shemyakin et L. A. Shchukina. — *Quat. Rev. Chem. Soc.*, 1956, **10**, 261.
19. A. S. Shokhlov, L. A. Shchukina et M. M. Shemyakin. — *Zhur. Obshehei. Khim.*, 1949, **19**, 498.

IV. — ÉTUDE DE LA CYCLISATION EN PYRAZOLINE-5-ONE DES SEMICARBAZONES DU TYPE $-\underset{\|}{\overset{NR}{C}}-\underset{\|}{\overset{NR}{C}}-COOH$

Les dérivés déhydro des aci-réductones :

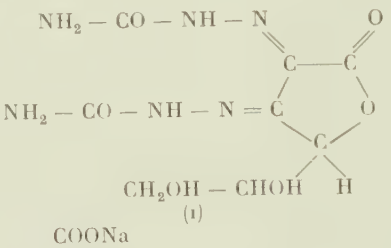
$$R-CO-CO-COOH$$

donnent des semicarbazones dont la cyclisation a été envisagée à la suite de déplacements inexpliqués concernant tant les $E_{1/2}$ de leurs vagues de réduction que les bandes d'absorption ultra-violette.

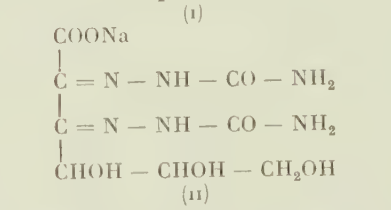
Ces phénomènes ont été décrits en détail pour l'acide déhydro-ascorbique dans une Note aux comptes rendus ainsi que dans une publication au *Bulletin de la Société Chimique de France* [1]. Cet exposé est un sommaire des principaux résultats obtenus.

1° La semicarbazide réagissant sur l'acide déhydro-ascorbique, à 20° C, en milieu chlorhydrique dilué, précipite lentement un corps cristallisé en aiguilles jaunes, se décomposant sans fondre à 260° C (I).

2° Après dissolution de (I) dans la soude $\frac{N}{2}$, dilution au dixième dans le méthanol, l'éther éthylique précipite un sel jaune cristallin fondant à 217° C (II). L'étude polarographique, spectrophotométrique (dans l'ultra-violet) et potentiométrique tend à attribuer à (I) et (II) les formules suivantes :



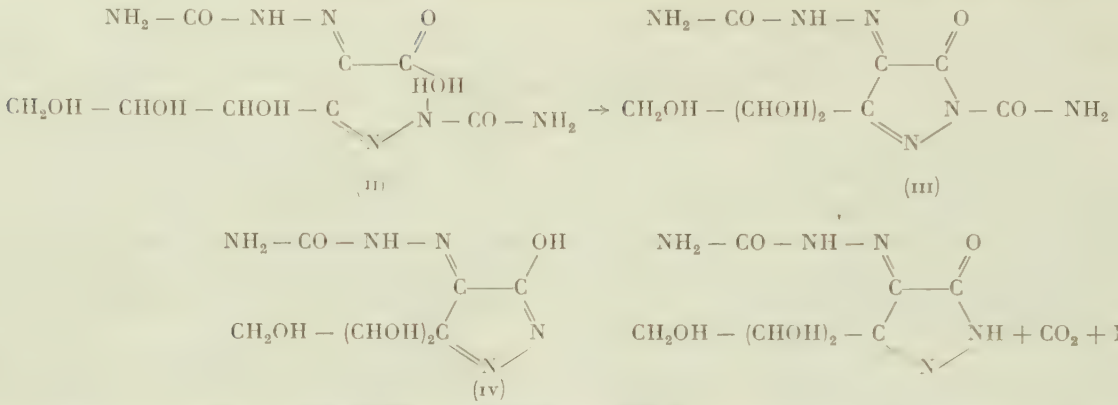
(I)



(II)

3° Si la réaction de la semicarbazide sur l'acide déhydro-ascorbique est effectuée à 80° C, (I) ne précipite pas. Un titrage potentiométrique montre l'apparition de 1 NH_3 et d'une acidité faible, tandis que 1 CO_2 s'est dégagé. La réaction peut être schématisée ainsi :

[1] C. Prévost et M. Fleury, *C. R.*, 1964, **258**, 5873.
M. Fleury, *Bull. Soc. Chim. France*, 1966, **2**, 522.



(III)

(III)

(IV)

Les pyrazolones (III) et (IV) ont été préparées. La première est une poudre micro-cristalline jaune, se décomposant avec dégagement gazeux à 146° C. La seconde se présente comme une poudre blanche se décomposant avec dégagement gazeux à 120° C. Le sel de sodium de (IV) a également été préparé.

4° Propriétés des pyrazolines 5 one obtenues.

— Elles sont très solubles dans l'eau et hygroscopiques.

— (IV) donne une réaction de tautomérie du type :

$$B^- + -\underset{\underset{O}{\|}}{C}-NH \rightleftarrows BH + -C=N- \quad (O^{\ominus})$$

à laquelle correspond un pK apparent de 7,35. Cette valeur est confirmée par spectrophotométrie ultra-violette.

— (IV) étant beaucoup plus réductible que (III) à l'électrode à goutte, la polarographie permet de suivre la réaction de décarbamidation :

$$(III) \rightarrow (IV) + CO_2 + NH_3.$$

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Application de l'électrophorèse à l'étude des hydrates de carbone

Vu et approuvé :
Paris, le 18 février 1966.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc ZAMANSKY.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Jean ROCHE.

M.-B. FLEURY

Imprimé avec les *Annales de Chimie.* *Le Directeur de la Publication :* Georges Masson

DÉPÔT LÉGAL : 1966, 1er TRIMESTRE, N° D'ORDRE 4237, MASSON ET Cie, ÉDITEURS, PARIS
Printed in France. IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A., LAVAL, N° 5236. — 3-1966.

Thèse publiée par les *ANNALES DE CHIMIE*, 14e Série, **Tome 1**, 1966